

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**İMMATÜR SIÇANLARDA UYGULANAN
DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİ
SONRASINDA AKUT TEK DOZ MK-801
KULLANIMININ ERİŞKİN DÖNEM BEYİN
DOKUSU VE BİLİŞSEL DAVRANIŞ ÜZERİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. AYŞE ÇİĞEL

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2019

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**İMMATÜR SIÇANLARDA UYGULANAN
DENEYSEL KAFA TRAVMASI MODELİ
SONRASINDA AKUT TEK DOZ MK-801
KULLANIMININ ERİŞKİN DÖNEM BEYİN
DOKUSU VE BİLİŞSEL DAVRANIŞ ÜZERİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYŞE ÇİĞEL

İÇİNDEKİLER LİSTESİ

TABLO LİSTESİ.....	6
ŞEKİL LİSTESİ	7
KISALTMALAR.....	9
TEŞEKKÜR	11
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	9
4.1. Kafa Travması.....	9
4.1.1. Kafa Travmalarının Epidemiyolojisi.....	9
4.1.2. Kafa Travmalarının Sınıflandırılması	10
4.1.3. Kafa Travması Fiziopatolojisi ve Nörokimyasal Mekanizmaları.....	12
4.1.4. Kafa Travma Modelleri	16
4.2. Hipokampus ve Öğrenme-Bellek.....	18
4.2.1. Hipokampusün Yapısı.....	19
4.2.2. Hipokampusün İşlevleri.....	22
4.2.3. Öğrenme.....	24
4.2.3.1. Non-asosiyatif Öğrenme	24
4.2.3.2. Asosiyatif Öğrenme	25
4.2.4. Bellek	25
4.2.4.1. Belleğin Sınıflandırılması	25
4.2.4.1.1. Kısa Süreli Bellek	25
4.2.4.1.2. Uzun Süreli Bellek	26
4.2.5. Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi (Morris Su Labirenti testi)	26

4.3. Nörotrofik faktörler	27
4.3.1. NGF	28
4.3.2. BDNF	29
4.4. N-Metil-D-Aspartik asit reseptörü	30
4.4.1. NMDA Reseptörünün Yapısı	33
4.4.2. NMDA Reseptör Türleri	35
4.5. MK-801 (Dizocilpine maleate)	36
4.5.1. MK-801 ve Genel Özellikleri	36
4.5.2. MK-801 ve NMDA'ya Bağlanma Mekanizması	37
5. GEREÇ ve YÖNTEM	39
5.1. GEREÇ	39
5.1.1. Denek Grupları	39
5.1.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler ve Maddeler	40
5.2. YÖNTEM	40
5.2.1. Travmatik Beyin Zedelenmesi Modeli	40
5.2.2. İntraperitoneal MK-801 Uygulanması	41
5.2.3. Deneysel Değerlendirmeler	42
5.2.3.1. Açık alan testi	42
5.2.3.2. Morris su labirenti testi	42
5.2.3.3. Hipokampal Nöron Sayımı	43
5.2.3.4. İndirekt immunohistokimyasal yöntem	44
5.2.3.5. NGF, BDNF ve NMDA-R düzeylerinin ELISA ile değerlendirilmesi ..	44
5.2.4. İstatistiksel Analiz	47
6. BULGULAR	49
7. TARTIŞMA	81

8. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	94
KAYNAKLAR.....	97



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Rotterdam bilgisayar tomografi skorlaması	11
Tablo 2. Deney gruplarına ilişkin vücut ağırlığı istatistikleri	49
Tablo 3. Deney gruplarına ilişkin histolojik değerlendirmede hipokampal nöron sayımlarının ortalaması	50
Tablo 4. Sağ Hipokampus Bölgesinde BDNF, NGF, NMDA-R ve GFAP Düzeylerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	54
Tablo 5. Sol Hipokampus Bölgesinde BDNF, NGF, NMDA-R ve GFAP Düzeylerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	60
Tablo 6. Sağ hipokampus kontrol, travma ve travma+ MK-801 uygulanan gruplarda grup ortalamaları \pm SD ve p değerleri	70
Tablo 7. Açık alan testine göre katedilen mesafeler ve hareket hızları	72
Tablo 8. Açık alan testine göre orta ve perifer alanlarda geçirilen süreler	74
Tablo 9. Morris su labirenti testine göre 1., 2., 3. ve 4. günlerdeki platform bulma süreleri.....	76
Tablo 10. Morris su labirenti testine göre 1., 2., 3. ve 4. günlerdeki yüzme hızları...	77
Tablo 11. Morris su labirenti testine göre hedef kadranda geçirilen süreler.....	79
Tablo 12. Morris su labirenti testine göre tüm kadrarlarda geçirilen süreler	79

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Glutamat içeren beyin hasarı mekanizmaları	14
Şekil 2. Travmatik beyin hasarında gelişen mekanizma.....	15
Şekil 3. Travmatik beyin hasarının <i>in vivo</i> deneysel modellerinin şematik gösterimi.....	17
Şekil 4. Beynin iç görünümü	19
Şekil 5. Hipokampusun koronal kesit yapısı	20
Şekil 6. Uzun dönem belleğin yapılanması.....	26
Şekil 7. Morris su labirenti düzeneği	27
Şekil 8. NGF'nin etki mekanizması.....	29
Şekil 9. Travmatik beyin hasarı etkileri	32
Şekil 10. Glutamat kaynaklı eksitotoksik hücre ölümü	33
Şekil 11. NMDA reseptör yapısı	34
Şekil 12. Dizosilpin MK-801 kimyasal yapısı	36
Şekil 13. Araştırmada kullanılan 7 günlük yavru sıçanlar	40
Şekil 14. Kafa travması düzeneği.....	41
Şekil 15. Sıçanlara MK-801'in intraperitoneal uygulanması.....	41
Şekil 16. Açık alan testi düzeneği	42
Şekil 17. Sıçanların Morris su labirenti üzerinde durma ve yüzme davranışları	43
Şekil 18. Araştırmada kullanılan ELISA kiti	46
Şekil 19. Vücut ağırlıklarının gruplara göre dağılımı.....	49
Şekil 20. Sağ Hipokampus Nöron sayımlarının gruplara göre dağılımı.....	51
Şekil 21. Sol Hipokampus Nöron sayımlarının gruplara göre dağılımı.....	52
Şekil 22. Hipokampus bölgesinde Hematoksilen-Eosin boyama.	53
Şekil 23. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki BDNF Düzeyleri	55
Şekil 24. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NGF Düzeyleri.....	57

Şekil 25. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NMDA-R Düzeyleri	58
Şekil 26. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki GFAP Düzeyleri.....	59
Şekil 27. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki BDNF Düzeyleri.....	62
Şekil 28. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NGF Düzeyleri	63
Şekil 29. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NMDA-R Düzeyleri.	64
Şekil 30. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki GFAP Düzeyleri	66
Şekil 31. Hipokampus bölgesinde BDNF immün boyama	67
Şekil 32. Hipokampus bölgesinde NGF immün boyama.....	67
Şekil 33. Hipokampus bölgesinde NMDA-R immün boyama.....	68
Şekil 34. Hipokampus bölgesinde GFAP immün boyama.....	68
Şekil 35. Protein standart grafiği	69
Şekil 36. Sıçan gruplarına ait NGF düzeyleri.....	70
Şekil 37. Sıçan gruplarına ait BDNF düzeyleri.....	71
Şekil 38. Sıçan gruplarına ait NMDA-R düzeyleri.....	72
Şekil 39. Sıçan gruplarına ait katedilen mesafelerin gruplara göre dağılımı	73
Şekil 40. Sıçan gruplarına ait hareket hızlarının gruplara göre dağılımı	73
Şekil 41. Sıçan gruplarına ait orta alanda geçirilen sürenin gruplara göre dağılımı ..	75
Şekil 42. Sıçan gruplarına ait perifer alanda geçirilen sürenin gruplara göre dağılımı	75
Şekil 43. Sıçan gruplarına ait platform bulma sürelerinin gruplara göre dağılımı.....	77
Şekil 44. Sıçan gruplarına ait yüzme hızlarının gruplara göre dağılımı	78
Şekil 45. Sıçan gruplarına ait hedefkadranda geçirilen sürelerin gruplara göre dağılımı (*p<0.05)	80
Şekil 46. Sıçan gruplarına ait tüm kadrarlarda geçirilen sürelerin gruplara göre dağılımı (*p<0.05)	80

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AMPA	: Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metilizoksazol-Propionik Asit
AMPAR	: Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metilizoksazol-Propionik Asit Reseptörü
ATP	: Adenozin Trifosfat
BDNF	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
CA1	: Cornu Ammonis Area1
CA3	: Cornu Ammonis Area3
CCI	: Kontrollü Kortikal Çarpma
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CNS	: Santral Sinir Sistemi
DAH	: Diffüz Aksonal Hasar
DG	: Dentate Gyrus
DNA	: Deoksiribonüklenik asit
EAA	: Eksitatör Aminoasit
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ER	: Endoplazmik Retikulum
GCL	: Granül Hücre Tabakası
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
GKS	: Glaskow Koma Skoru
GLT	: Glutamat Taşıyıcı
İP	: İntraperitoneal
LP	: Lipid Peroksidasyonu
LTM	: Uzun Süreli Hafıza
LTP	: Uzun Vadeli Güçlenme
NGF	: Sinir Büyüme Faktörü
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMDA-R	: N-metil-D-aspartat Reseptörü
NMDARHipo:	NMDA reseptör hipofonksiyon
NO	: Nitrik Oksit

NT-3	: Nörotrofin-3
NT-4/5	: Nörotrofin-4/5
PLC	: Fosfolipaz C
PC	: Posterior Singulat
RS	: Retrosplenial
SP	: Stratum Pyramidale
TBI	: Travmatik Beyin Hasarı
Trk	: Tirozin Kinaz
TrkA	: Tirozin Kinaz Reseptörü A
TrkB	: Tirozin Kinaz Reseptörü B
TrkC	: Tirozin Kinaz Reseptörü C
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalıŐmamın tım aŐamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli tez danıŐman hocam Prof. Dr. Ataç SÖNMEZ'e, uzmanlık eğitimim süresince bilgi, birikim ve deneyimlerini aktararak bu disiplinde yetiŐmemi sağlayan başta Anabilim Dalı BaŐkanımız Prof. Dr. Müge KİRAY olmak üzere diğer tım değerli hocalarıma saygı ve Őukranlarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu'ndan Dr. Öğretim Üyesi Oya SAYIN'a, Histoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Seren GülŐen GÜRGEN'e ve Fizyoloji Anabilim Dalı'mızın emektarı sevgili Ferhan Oral'a tım katkılarından dolayı teŐekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim başta annem ve babam olmak üzere canım aileme, ihtisas sürem boyunca sabır ve destekleri için teŐekkürü bir borç bilirim.

Dr. Ayşe İŐEL

1. ÖZET

Bu çalışmada immatür sıçanlardaki kafa travmasının geç dönem (erişkin dönem) etkilerini ve travma sonrası akut tek doz MK-801 kullanımının uzun dönem nöroprotektif etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmada immatür sıçanlara travma sonrası intraperitoneal 1 mg/kg MK-801 uygulanarak 16 hafta boyunca haftalık vücut ağırlığı ölçümleri yapılarak takip edildi ve 16. haftanın bitiminde açık alan ve Morris su labirenti testleri uygulanmıştır. Davranış testlerinden sonra sıçanlara sakrifikasyon işlemi uygulanarak, beyin dokuları çıkartılmıştır. Elde edilen beyin dokularında bilateral hipokampal CA1, CA3 ve DG alanlarında nöron sayımı yapılarak morfolojik değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sıçanların beyin dokularının bir kısmı histolojik olarak sinir büyüme faktörü (NGF, *Nerve Growth Factor*), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF, *Brain Derived Neurotrophic Factor*), N-Metil-D-Aspartik asit reseptörü (NMDA-R, *N-methyl-D-aspartate receptor*) ve glial fibriller asidik proteinin (GFAP, *glial fibrillar acidic protein*) immunohistokimyasal boyama ile hipokampus dokusundaki dağılımları incelenmiştir. Hipokampus doku homojenatındaki NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeyleri ise ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) yöntemleri ile incelenmiş ve bu moleküllerin üzerinde MK-801'in beyin hipokampus bölgesindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre; sıçanların kilo artışı/azalışı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p>0.05$). Hipokampal nöron sayımı bulgularına göre travma+ MK-801 grubundaki sıçanların bilateral hipokampusun CA1, CA3 ve DG alanlarındaki nöron sayılarının korunduğu ve kontrol grubuna yakın düzeyde seyrettiği belirlenmiştir. İmmunohistokimyasal bulgulara göre, travmanın bilateral hipokampusun CA1, CA3 ve DG alanlarında BDNF, NGF ve NMDA-R ekspresyonlarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı, MK-801 uygulamasının ise BDNF, NGF ve NMDA-R ekspresyonlarındaki azalmayı tersine çevirerek arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca MK-801'in hipokampal alanlardaki GFAP ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı gözlemlenmiştir. ELISA bulguları ise histolojik bulgulara benzer şekilde, sağ hipokampus bölgesinde NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerinde travma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur

(sırasıyla $p=0,026$, $p= 0,017$ ve $p=0,001$). Travma+ MK-801 uygulanan grupta ise travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,035$, $p=0,030$ ve $p=0,001$). Açık alan testi bulgularına göre travma+ MK-801 grubunun orta alanda geçirdiği sürenin en yüksek, perifer alanda geçirdiği sürenin ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca travma+ MK-801 grubunun katettiği mesafe ve hareket hızı en yüksek bulunmuştur. Morris su labirenti bulgularına göre travma+ MK-801 grubunun platform bulma süresinin travma grubuna kıyasla daha kısa olduğu belirlenmiştir. Yüzme hızı açısından 4. günün sonunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Travma+ MK-801 grubunun hedef kadranda geçirdiği sürenin travma grubuna kıyasla daha uzun olduğu, ayrıca travma grubunun hedef kadranda geçirdiği sürenin kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha kısa olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak travmatik beyin hasarının öğrenme ve belleği olumsuz yönde etkilediği anlamlı bir şekilde ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Travmatik beyin hasarı, immatür sıçan, bellek, öğrenme, MK-801, ELISA, BDNF, NGF, NMDA-R, GFAP.

2. ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the long-term effects of head trauma on immature rats and the long-term neuroprotective effect of acute single-dose MK-801 after trauma. In the study, immature rats were followed by intraperitoneal 1 mg/kg MK-801 after trauma and followed by weekly body weight measurements for 16 weeks and at the end of the 16th week Open Field and Morris Water Labyrinth Tests were applied. After behavioral tests, rats were sacrificed and brain tissues were removed. Morphological evaluation was performed by obtaining neuron counts in bilateral hippocampal CA1, CA3 and DG areas in brain tissues obtained. In addition, some of the brain tissues of rats are histologically detected as nerve growth factor (NGF), brain derived neurotrophic factor (BDNF), N-Methyl-D-Aspartic acid receptor (NMDA-R) and glial fibrillar acidic protein (GFAP) immunohistochemical staining and distribution in hippocampus tissue were investigated. NGF, BDNF and NMDA-R protein levels in the hippocampus tissue homogenate were investigated by ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) and the effects of MK-801 on the brain hippocampus region were evaluated.

According to the findings obtained from the study; there was no statistically significant difference between the groups in terms of weight gain / decrease in rats ($p > 0.05$). According to the findings of the hippocampal neuron count, it was determined that the number of neurons in the CA1, CA3 and DG areas of the bilateral hippocampus in the trauma + MK-801 group were maintained and were close to the control group. According to immunohistochemical findings, the trauma was found to significantly decrease BDNF, NGF and NMDA-R expression in the CA1, CA3 and DG areas of the bilateral hippocampus, while the use of MK-801 increased the reversal of BDNF, NGF and NMDA-R expression. In addition, it was observed that MK-801 significantly increased GFAP expression in hippocampal areas. Similar to the histological findings, ELISA findings showed a statistically significant decrease in NGF, BDNF and NMDA-R protein levels in the right hippocampus in the trauma group compared to the control group ($p = 0.026$, $p = 0.017$ and $p = 0.001$, respectively). There was a statistically significant increase in trauma + MK-801 group compared to trauma group ($p = 0.035$, $p = 0.030$ and $p = 0.001$, respectively). According to the open-field test results, it was determined that the time spent in the middle area of the trauma + MK-

801 group was highest and the time spent in the periphery was the lowest. In addition, trauma + MK-801 group had the highest distance and movement speed. According to Morris water maze findings, trauma + MK-801 group was found to be shorter than the trauma group. There was no significant difference between the groups at the end of day 4 in terms of swimming speed ($p > 0.05$). It was determined that the time spent in the target quadrant of the trauma + MK-801 group was longer compared to the trauma group, and that the time spent in the target quadrant of the trauma group was statistically significantly shorter than the control group. As a result, it has been shown that traumatic brain injury negatively affects learning and memory.

Keywords: Traumatic brain injury, immature rats, memory, learning, MK-801, ELISA, BDNF, NGF, NMDA-R, GFAP.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Kafa travması, insanlık tarihi kadar eski olmasına rağmen, bugün halen mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden biri olarak, çok sayıda insanı etkilemektedir (1, 2). Kafa travması terim olarak; hareket halindeki bir cismin duran kafaya, hareket halindeki kafanın duran bir cisme çarpması veya değişik hızlarda hareket eden kafa ile cisimlerin çarpışmaları sonucu oluşan kinetik enerjinin kafatası ve içindekileri ilgilendiren bir hasara dönüşmesi anlamına gelmektedir. Bu araştırmada kafa travması, travmatik beyin hasarı (traumatic brain injury-TBH) olarak ele alınmıştır.

Kafa travması ile beynin daha çok korteks ve hipokampusu etkilenmektedir. Hipokampus spasyal öğrenme ve bellek ile ilişkilidir (3, 4). Önceki çalışmalar, hipokampal nöronal kaybın aynı taraftaki hipokampal alanlarla sınırlı olmadığını, kontralateral hipokampal bölgelerde de nöronal kayıp olduğunu ortaya koymuştur (5, 6). Kafa travmasının özellikle hipokampusu etkilemesiyle bellek de etkilenebilmektedir. Hipokampal nöronlardaki kayıp, kafa travmasından sonra sıklıkla görülen bellek sorunlarının nedenini oluşturmaktadır (7). Daha önceki yapılan çalışmalarda kafa travması ile immatür sıçanlardaki öğrenme ve belleğin bozulduğu (8) ve hipokampal inaktivasyon ile Morris su labirentinde öğrenme sürecinin uzadığı, deneklerin probe trialde amaçsızca yüzdükleri görülmüştür (9).

Hipokampus alanları spasyal öğrenme ve hatırlama sürecinde entorhinal korteks, prefrontal korteks, parietal korteks, anterior cingulat cortex, striatum ve amigdala ile birlikte çalışır (10). Prefrontal korteks, spasyal öğrenme modelinin tamamlanmasında hipokampus dışı yapıların en önemlisidir. Hipokampus ile prefrontal korteks spasyal öğrenme ve bellek işlevlerinde birbirini kompanze eder (11). Öğrenme sürecinde hipokampusun öncelikle CA3 bölgesi nöronları bilgileri alıp işlerken prefrontal korteksten gelen bilgilerle birleştirir (12). Hipokampus CA3 bölgesi, Schaffer Kollateralleri aracılığı ile CA1 bölgesi ile bağlantılıdır. CA1 çıktıları subikulum, entorhinal korteks ve prefrontal kortekse uzanır (13). CA1, bilgilerin çoğunu CA3'den, küçük bir bölümünü entorhinal korteksten alır (13, 14). Hata dedektörü gibi çalışan CA1 bölgesi, kortikal bilgi ile CA3 ve entorhinal korteksten aldığı bilgi arasındaki uyumsuzluğu arar ve böylece depolanan bilgi düzeltilir (14).

Yapılan gözlemler ve çalışmalar TBH geçiren insanların hayatlarının ileri dönemlerinin de etkilendiğini göstermektedir. Hem çocuklarda hem de erişkinlerde yüksek planlama, problem çözme, çalışan bellek ve öğrenme sorunları, bilgi işleme hızında ve dil fonksiyonlarında sorunlar, vizüospasyal işlevlerde gerileme gibi kognitif problemler, zekâ testlerinde düşük performans, IQ skorunda etkilenme travmatik beyin hasarından sonra ortaya çıkabilen önemli sekellerdendir (15, 16). İleri dönem etkiler ile sekonder hasara bağlı oluşan bu sekelleri azaltabilmek için klinisyenlerin doğru ve etkili tedavisi ve rehabilitasyon planında önem taşımaktadır.

Travmatik ikincil beyin hasarlarından beyin ödeminin tedavisi, kafa içi basıncının azaltılması, hipoksi ve şokla mücadele gibi destek tedavileri ile sürdürülmektedir. Buna rağmen ikincil hasarı önleme konusunda günümüzde onaylanmış özel bir tedavi ajanı yoktur. MK-801 (dizocilpine) gibi rekabetçi olmayan N-metil-D-aspartat reseptör antagonistleri ile tedavi, TBH sonrasında EAA salınımına bağlı eksitotoksik hasarı azaltmak için etkili bir mekanizma olarak önerilmiştir. Aynı zamanda MK-801 uygulamasının, hipokampal nöronal kaybı ve buna bağlı bellek düşüşünü koruduğu bir çalışmada gösterilmiştir (6).

In vivo ve in vitro çalışmalarda aşırı glutamat salınımının anoksik beyin hasarından sorumlu olduğu ve bu artışın engellenmesi ile hasarın azalabileceği gösterilmiştir (17). Glutamat tanımlanan üç reseptör sınıfıyla etkileşir ve bunların arasında en iyi tanımlanan N-metil-D-aspartat reseptörü, aktive iyonotropik glutamat reseptörüdür (NMDA-R) (18). NMDA-R gelişmekte olan santral sinir sisteminde (CNS), sinirsel farklılaşma ve sinaps konsolidasyonunda kritik rol oynamaktadır. NMDA-R, kaudat nükleus ve hipokampustan kuvvetlice eksprese olmaktadır. Yetişkin beyninde, NMDA-R'ın, öğrenme ve hafıza (uzun vadeli güçlenme, LTP), hareket kontrolü-denge, ve entegrasyonla ilişkili mekanizmaların düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (19). NMDA-R'ın özellikle uzak hafıza için önemli olmakla birlikte zihinsel beceri de içerdiği düşünülmektedir (3). Glutamatın NMDA-R ile etkileşimi, seçici olarak rekabetçi veya rekabetsiz biçimde antagonize edilebilir (20, 21). Kan-beyin bariyerini aşabilen NMDA reseptör antagonistleri travmatik ve iskemik beyin hasarının etkilerini azaltmak için potansiyel ajanlar olarak tanımlanmıştır (17). Rekabetçi olmayan NMDA reseptör antagonisti MK-801, NMDA-R'ı bloke eder ve hipoksik iskemik beyin hasarı ile serebral korteks sinir

hücrelerindeki Ca^{+2} iyonu aşırı yükünü hafifletir, beyin hücrelerindeki apoptozu inhibe eder (22). MK-801'in deneysel TBH modeli uygulanan sıçanlarda serebral koruyucu etki gösterebildiği rapor edilmiş olsa da, öğrenme ve hafıza sekeli üzerine etkisini araştıran raporlar nadirdir (23, 24).

Hipokampus bölgesi, sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi birçok nörotrofin gen ailesinin sentezlendiği yerdir ve BDNF bağlama bölgelerinden zengindir (25). NGF ve BDNF olmak üzere iki büyük nörotrofik faktör, nöronal büyüme, nöron canlılığı ve bilişsel işlevlerin temelinde rol oynayan plastisite ile ilişkili çeşitli fizyolojik süreçlerde yer alır (26). Çeşitli patolojik koşullar altında BDNF ve NGF'nin de nöroprotektif moleküller olarak görev yapabileceklerini gösteren çalışmalar vardır (27, 28). Hipokampal bölgede BDNF ekspresyonu; yaralanma yaşı (29), hasar şiddeti (30), nöronal aktivasyon (31) ve glutamaterjik aktivasyon (32) gibi çeşitli faktörlerle artmaktadır. Bununla birlikte TBH sonrası nörotrofik faktörlerin nöroprotektif etkileri halen tartışmalıdır.

MK-801 bugüne kadar sentezlenen veya keşfedilen NMDA reseptör blokörleri içerisinde en kuvvetli nöroprotektif ajandır. Başlangıçta antikonvülzan, anksiyolitik ve semptomimetik olarak kullanılan MK-801 günümüzde özellikle hipoksi/iskemi sonucu oluşan eksitotoksik hasarlara karşı nöroprotektif bir ajan olarak önerilmektedir (17, 33).

Literatürde travmatik beyin hasarı sonrası hipokampus gelişiminde BDNF ve NGF miktarı konusunda çok az şey bilinmektedir. Ek olarak, immatür sıçanların hipokampal beyin bölgelerinde nörotrofik faktörlerin ekspresyonu ve travma sonrası ekspresyonlarında MK-801'in erişkin dönem etkisi hakkında literatürde bilgi yoktur (6). Aynı zamanda literatürde MK-801 ajanının bilişsel davranış ve öğrenme-bellek üzerine kronik dönem etkilerini inceleyen bir çalışma da bulunmamaktadır. Dolayısıyla bu çalışmada immatür sıçanlarda uygulanan deneysel künt kafa travmasının ve travma sonrası akut uygulanan MK-801'in beyin dokusu ve uzaysal bellek fonksiyonu üzerine uzun dönem etkilerini incelemek amaçlanmıştır. Ayrıca travma ve MK-801'in nöronların yaşamı ve farklılaşmasında önemli yeri olan NGF, BDNF ve NMDA-R ekspresyonuna etkileri immunhistokimyasal ve ELISA yöntemleri ile değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca astrosit aktivasyonunun bir

işareti olarak kullanılan GFAP ekspresyonu immunohistokimyasal olarak incelenmiştir.



4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kafa Travması

Kafa travması veya literatürde genellikle kullanıldığı şekliyle “travmatik beyin hasarı” (traumatic brain injury-TBH), beyine yönelik hızlanma veya yavaşlama, patlama dalgaları, ezilme, bir cismin çarpma veya nüfuz etmesi gibi dışsal mekanik kuvvetlerin neden olduğu hasar olarak tanımlanmaktadır. TBH, bilişsel, fiziksel ve psikososyal işlevlerin geçici veya kalıcı olarak bozulmasına yol açabilir (34).

Özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ve genç nüfusta, ölüm sebeplerinin arasında ilk sırada travmalar ve yarından fazlasında da kafa travmaları bulunmaktadır. Kafa travması sonucu meydana gelen kalıcı sakatlıklar, sadece hasta ve ailesini etkilemekle kalmayıp, ülke ekonomileri için de ciddi tahribat sebebi olmaktadır. Bu nedenlerle, travmanın oluşmadan önlenmesi ciddi önem arz etmektedir. Bunu sağlamak için, konu ile ilgili epidemiyolojik verilere ve sonucunda da eğitim ve eksik olduğu tespit edilen noktalarda kurallar oluşturma gereksinimi vardır (35).

4.1.1. Kafa Travmalarının Epidemiyolojisi

TBH, dünya genelinde önemli bir sağlık ve sosyoekonomik problemin kaynağıdır. Yüksek gelirli ülkelerdeki gençler arasında mortalite ve morbiditenin önde gelen nedeni olup, küresel olarak düşük ve orta gelirli ülkelerde artan motorlu araç kullanımından dolayı insidansı hızlı bir şekilde artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2020 yılına kadar, trafik kazalarının küresel hastalık ve yaralanma yükünün üçüncü en büyük nedeni olacağını öngörmüştür (36).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’de, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerinin (CDC) izleme çalışmaları, yıllık acil servis ziyaretleri insidansının ve TBH için hastane kabullerinin sırasıyla 100 000’de 403 ve 100 000’de 85 olduğunu göstermektedir (37). İngiltere ve Galler’de, yılda 1.4 milyon hastanın kafa yaralanması sonrası hastaneye gittiği ve 40 yaşın altındaki en yaygın ölüm sebebi olduğu belirlenmiştir (38). Avrupa genelinde yapılan bir çalışmada düşme ve trafik kazaları TBH’ye neden olan en sık iki unsurdur ve düşmelerin trafik kazalarına göre daha sık gerçekleştiği bildirilmiştir. Çalışmaların çoğunda en yaşlı gruplarda en yüksek TBH

insidansı görülmüştür. Meta-analizler sonucunda ise TBH için her 100.000'de 262 oranında genel bir insidans elde edilmiştir (39).

Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada ise, kafa yaralanmalarının ölümlerin dördüncü önde gelen nedeni olduğu belirtilmiştir. Yaralanmalar, yıllık olarak 100.000 kişide 16.8 oranında çocuk ölümüne neden olmuştur. Ölümlerin %62 oranında erkek ve % 52'sinin 5 yaş altı bireylerden oluştuğu ilave edilmiştir. 1-14 yaş arasında, motorlu araç kazaları ise ölüm nedenlerinde ilk sıradadır (40).

Dünya genelinde 29 ülkede yapılan bir çalışmada, TBH yaşayan kişilerin ortalama yaş aralığının 27 ile 59.67 arasında değiştiği belirlenmiştir. TBH görülme insidansı Yeni Zelanda'da en yüksek, Belçika'da ise en düşük bulunmuştur. Gelişmekte olan ülkelerde motorlu araç kazaları ile ilişkili TBH'ler en sık görülen nedenler iken, düşmeyle ilişkili TBH'ler gelişmiş ülkelerde en yaygın nedenler olarak tespit edilmiştir. Kazalar ile ilişkili TBH'lerin yüzdesi Asya ülkelerinde en yüksek düzeydedir. Avrupa ise düşme ve iş kazalarından kaynaklanan TBH'lerde en yüksek yüzdeye sahiptir. Kuzey Amerika'da sporla ilişkili TBH'ler en yüksek yüzdeye sahiptir (41).

Türkiye'de kafa travması insidansı ve epidemiyolojisi ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Türkiye'de şehirleşme ve endüstrileşmenin bir sonucu olarak trafik kazaları, iş kazaları (yüksekten düşme) ve bireysel silahlanmanın sonucu ateşli silah yaralanmaları kafa travmalarının en sık görülen sebepleri arasında gösterilmektedir (42).

4.1.2. Kafa Travmalarının Sınıflandırılması

Kafa travmaları, gerçekleşme şiddeti açısından Glaskow Koma Skoru (GKS)'na göre hafif, orta ve şiddetli olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Hafif TBH, orta ve ağır TBH'lerin toplamından üç kat daha yaygın görülmektedir (43).

GKS 14 ile 15 arasında olan, bilinç kaybı 20 dakikadan kısa süren ve hastanede yatış süresi 48 saatten daha kısa kafa travması olguları hafif kafa travması olarak tanımlanmıştır. Hastanın giriş GKS 9 ile 13 olduğu olgular orta şiddetli kafa travması olarak tanımlanmaktadır. Orta şiddetli kafa travmasına sahip hastalarda kafatası

kırıkları, beyin parankiminde kontüzyon ve laserasyonları ve ayrıca Diffüz Aksonal Hasarı (DAH) bulunabilir. İntrakranyal basınç artışı, epidural ve subdural hematomlar gibi daha sonra gelişebilecek komplikasyonlar için artan riskleri barındırırlar. Ağır kafa travması GKS 8 ve daha düşük olan hastalar için kullanılmakta ve ağır kafa travmalı hastalar komatöz olarak kabul edilmektedir. GKS 3 ve 4 olan hastalar kritik yaralanmalı hastalar olarak tanımlanmış ve bu hastalar GKS 5 ve 8 olanlara göre daha kötü prognoza sahiptir (44).

Bununla birlikte, entübe edilen, artan kafa içi basıncının tıbbi kontrolü için paralize uğrayan veya durağan olmayan hastalarda, GKS skorunun doğru olarak değerlendirilmesi mümkün değildir. Böyle olasılıkların bulunduğu durumlarda en iyi ve hızlı yöntem, radyolojik görüntülere dayanan morfolojik kriterleri içeren model sisteminin kullanılmasıdır. Bu nedenle TBH sonrası akut yapısal hasarın değerlendirilmesi için ideal görüntüleme seçeneği bilgisayar tomografisi kullanımıdır (45).

Beyin hasarının Rotterdam bilgisayar tomografisi kullanılarak sınıflandırılması, mortalite ve fonksiyonel sonuçların tahmininde kullanımı hem bireysel yaralanma özellikleri hem de bileşik skorlama sistemleri açısından değerlendirilmektedir. Mortalite veya fonksiyonel sonuçları öngören bileşenler orta hat şifti, bazal sisternler, epidural kitle lezyonu, intraventriküler hemoraji veya subaraknoid kanama olarak sıralanmaktadır (46).

Tablo 1. Rotterdam bilgisayar tomografi skorlaması

Bilgisayar tomografi bulguları	Skorlar
<i>Bazal Sisternler</i>	
Normal	1
Komprese	2
Silik	3
<i>Orta Hat Şifti</i>	
≤5 mm	0
> 5 mm	1
<i>Epidural Kitle Lezyonu</i>	
Yok	0
Var	1
<i>İntraventriküler Kan veya Subaraknoid Kanama</i>	
Yok	0
Var	1

Tablo 1'e göre Rotterdam bilgisayar tomografi skorlaması bazal sisternler için normal, komprese ve silik, orta hat şifti 5mm'den büyük veya küçük, epidural kitle lezyonu ve intraventiküler kan veya subaraknoid kanama var ya da yok şeklinde gerçekleştirilmektedir.

4.1.3. Kafa Travması Fizyopatolojisi

TBH yalnızca patofizyolojik olay değil, karmaşık bir hastalık sürecidir ve hem birincil hem de ikincil yaralanma mekanizmalarına bağlı yapısal hasarlara ve fonksiyonel bozukluklara neden olmaktadır. Primer yaralanma, dış kuvvete maruz kalma sırasında meydana gelen beyin dokusunun ani mekanik bozulmasının sonucudur ve nöronların aksonlarının gerildiği ve yırtıldığı, kan damarlarına (hemoraji) ve aksonal kesilmelere, zedelenmeye yol açmaktadır. Sekonder hasar birincil hasardan birkaç dakika sonra aylar içinde gelişerek sonuçta beyin hücresi ölümüne, doku hasarına ve atrofiye yol açan metabolik, hücrenel ve moleküler olayların kaskadlarının sonucudur (34).

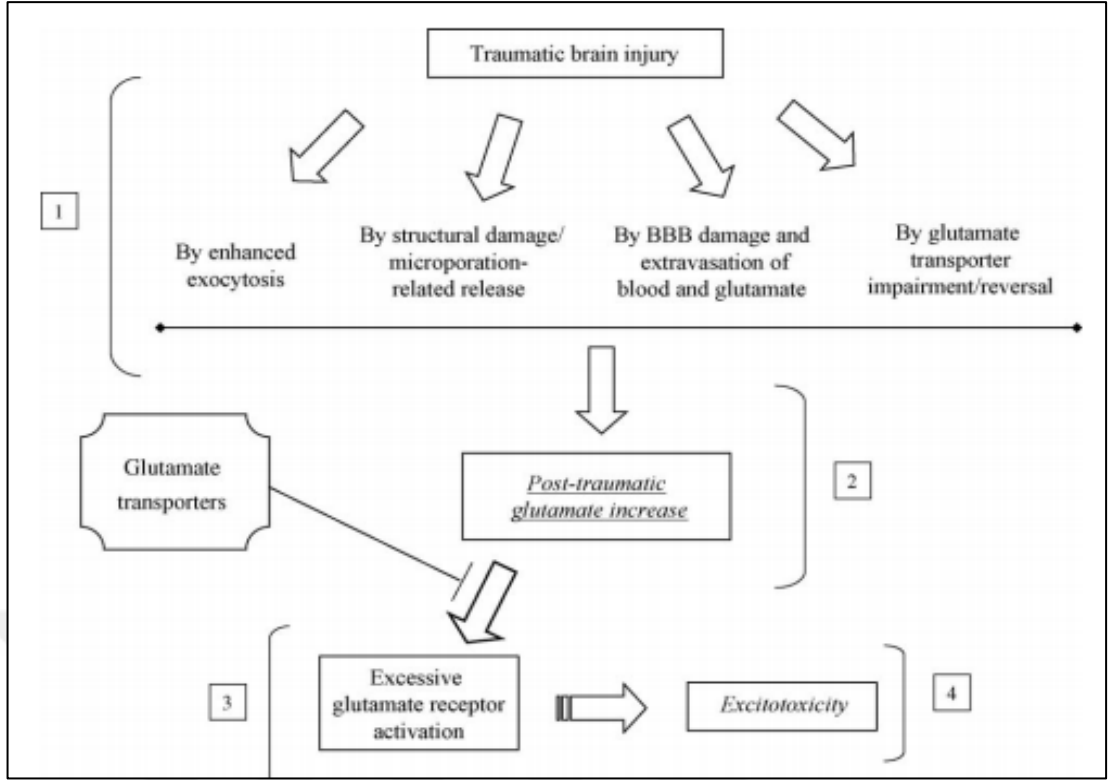
TBH sonrası patofizyolojide serebral hasarın ilk aşamaları, doğrudan doku hasarı ve serebral kan akışı ve metabolizmanın bozulması ile karakterizedir. Bu "iskemi benzeri" model, anaerobik glikoliz, artan membran geçirgenliği ve ardışık ödem oluşumu nedeniyle laktik asit birikimine yol açmaktadır. Anaerobik metabolizmanın hücrenel enerji durumunu muhafaza etmek amacıyla yetersiz kalması nedeniyle, ATP depoları tükenmekte ve enerji bağımlı membran iyon pompalarının başarısızlığı ortaya çıkmaktadır. Patofizyolojik kaskatın ikinci aşaması, eksitator nörotransmitterlerin (glutamat ve aspartat) aşırı salımı, N-metil-D-aspartat, a-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionat ve voltaj bağımlı Ca^{2+} - ve Na^{+} - kanallarının aktivasyonu ile birlikte terminal membran depolarizasyonu ile karakterize edilmektedir. Ardışık Ca^{2+} ve Na^{+} - akışı, katabolik hücre içi süreçlere yol açmaktadır. Ca^{2+} , lipid peroksidazları, proteazları ve fosfolipazları aktive eder ve bunlar da serbest yağ asitleri ve serbest radikallerin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Ayrıca kaspazların, translokazların ve endonükleazların aktivasyonu, biyolojik membranların ve yapısal nükleosomal DNA'nın (DNA fragmantasyonu ve DNA onarımının inhibisyonu) ilerleyen yapısal değişimlerini başlatır. Bu olaylar vasküler ve hücrenel

yapıların membran degradasyonuna ve nihayetinde nekrotik hücre ölümüne (apoptoz) yol açmaktadır (47).

TBH patofizyolojisinde glutamat sinyallemesinin rolü iki yönlüdür. Bir tarafta, akut posttravmatik glutamat salınımı, nöronal yaralanmaya, hücre ölümüne ve hayatta kalan nöronların işlev bozukluğuna yol açan beyin hasarı sonrası eksitotoksisiteden sorumludur. Öte yandan, eksitator glutamat devrelerinin gecikmeli olarak bozulması, bilişsel ve motor fonksiyonlarda ve plastisitede yetersizliğe yol açmaktadır (48).

Glutamat, beyinde en fazla bulunan eksitator nörotransmitterdir. Kafa travması sonrası artan hücre dışı glutamat seviyesi, nöronal hücre ölümüne yol açan ikincil hasarlanma ile sonuçlanabilecek glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılmasına neden olmaktadır. Bu tip olaylar, uzun süreli depolarizasyona ve sonraki iyonik dengesizliğe, ATP'nin tükenmesine ve beyin ödemi ile sonuçlanan intrasellüler serbest kalsiyum seviyelerinde artışa, kafa içi basıncın artmasına, vasküler kompresyona ve kafa travmasının ölümcül bir komplikasyonu olan beyin herniasyonuna neden olabilir. Bu nedenle, artan interstisyel glutamat seviyelerinin ve bunun sonuçlarına yol açan temel mekanizmaların anlaşılması önemlidir (49).

TBH sonrası hücre dışı glutamat artışına yönelik farklı çalışmalar bulunmaktadır. TBH ile ilişkili birincil yaralanmalar, kan-beyin bariyerinin bozulmasına yol açabilir. Koizumi ve ark. (1997) (50), sıçanlarda TBH ağırlık düşüşü modelinde kan glutamatının difüzyonunu incelemişlerdir. Yaralanmadan hemen sonra, femoral vene 14C etiketli glutamat enjekte etmişlerdir. Otoradyografide, vasküler bileşenden etkilenen bölgedeki kortekse işaretli glutamatın belirgin bir ekstravazasyonu ortaya çıkmıştır. Bu durum, hücre dışı glutamatın kan-beyin bariyerinin bozulmasıyla arttığını göstermektedir. Çalışmalarda ayrıca glutamatın spesifik olarak hasarlı membranlardan salındığı görülmüştür. Bullock ve ark. (1989) (51), TBH'yi takiben glutamat artışının yapısal amino asitlerdeki artışla korelasyon gösterdiğini tespit etmiştir. Bu durum, glutamatın, yaralanmaya bağlı membrandan salınabileceğini ileri sürmüştür (52).



Şekil 1. Glutamat içeren beyin hasarı mekanizmaları. Diyagram, glutamat eksitotoksitesinin dört ana bileşenini gösterir: aşırı salınma (1), hücre dışı glutamatta uzun süreli artış (2), glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması (3) ve eksitotoksiste (4).

Diğer çalışmalar presinaptik nöronların artan salınımının eksitotoksisiteye katkıda bulunduğunu göstermiştir. Yi ve ark. (2006) (53), kafa travması ardından protein kompleksin II ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır. Bu protein, nörotransmitter salınımının düzgün bir şekilde sürdürülmesinde rol oynamakta ve artan ekspresyonu, normal sinaptik fonksiyonun bozulmasını temsil edebilmektedir.

Bir başka potansiyel eksitotoksiste kaynağı glutamat transportasyonudur. Normal koşullar altında glutamat, astrositik transporter GLT-1'in etkisiyle sinapstan uzaklaştırılmaktadır. Rao ve ark. (1998) (54), sıçan beyindeki sıvı perküsyon yaralanmasından 24 saat sonra GLT-1 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını (% 38-47) göstermişlerdir. Transportasyon sonucundaki azalma, sinaptik yarıktaki aşırı glutamat oluşumuna yol açmaktadır. Buna ek olarak glutamat taşıyıcılarının etkisinin, hasarın en ağır olduğu yaralanma bölgesinde tersine döndüğü ileri sürülmüştür.

TBH tarafından tetiklenen en az iki tür gecikmeli ve progresif patobiyolojik değişiklik bulunmaktadır. Bunlardan biri, travmatik doku yırtılmasının doğrudan

durum, eylem potansiyellerinin uygunsuz bir şekilde üretilmesine ve yayılmasına yol açarak, “yayılan depresyona” veya yaralanma bölgesinden uzaktaki hücreleri etkileyebilen bir kortikal depolarizasyon dalgasına neden olmaktadır (59).

TBH ardından oluşan oksidatif stres nedeniyle ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, süperoksitler, nitrik oksit, peroksinitrit gibi metabolitler çıkmaktadır. Eksitotoksisite ve endojen antioksidan sistemin bozulması nedeniyle reaktif oksijen türlerinin aşırı yapımı; selüler ve vasküler yapılarda peroksidasyona ve protein oksidasyonuna neden olur, DNA yıkımını indükler ve mitokondrial elektron transport zincirini inhibe etmektedir. Her ne kadar bu mekanizmalar ani hücre ölümüne katkıda bulunsa da ayrıca enflamatuar süreçler ve erken ya da geç apoptotik programlar da oksidatif stres tarafından indüklenmektedir (56).

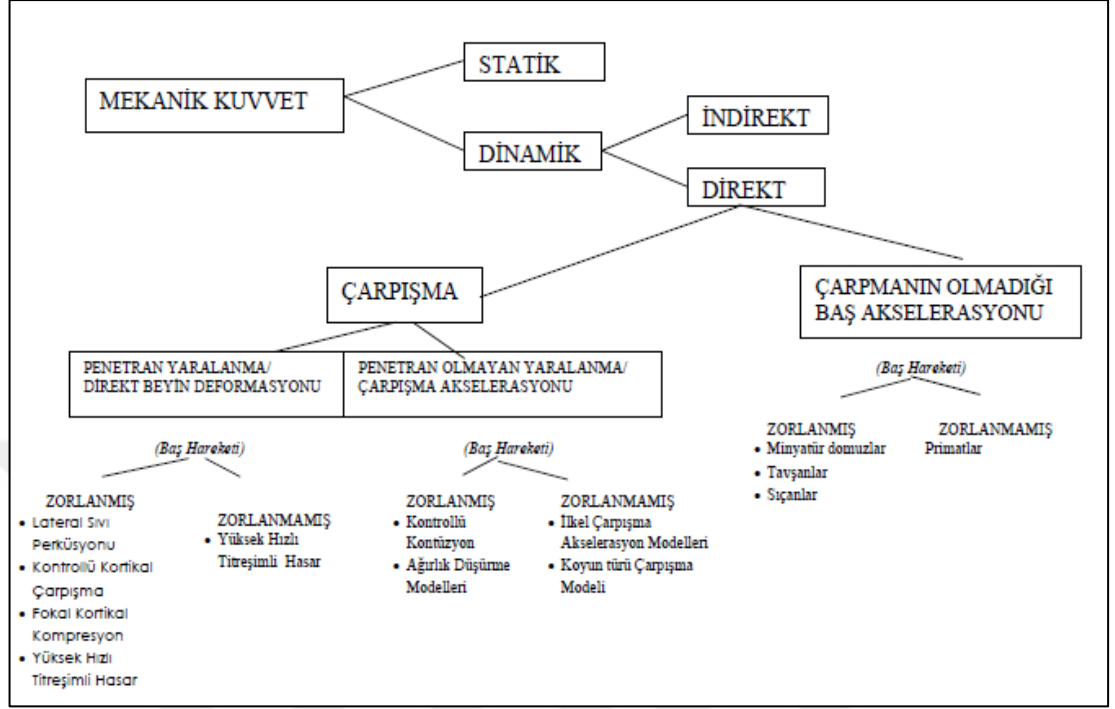
4.1.4. Kafa Travma Modelleri

TBH deneysel modellerinin amacı, deney hayvanlarında patoloji ve/veya tedaviyi hedefleyerek bazı patolojik bileşenleri veya klinik travma fazlarını ortaya çıkarmaktır. Belirli bir modelin tasarımı ve seçimi, araştırmanın amacına yönelik olmalıdır. Örnek olarak beyin hasarı biyomekaniğinin karakterizasyonu, doku kaybının moleküler mekanizmalarının değerlendirilmesinden ya da yeni terapötik tedavilerin etkinliğinin test edilmesinden farklı bir model gerektirebilir. Daha önceki modeller beyin hasarının biyomekanik yönlerini ele alırken, güncel modeller travma tarafından başlatılan karmaşık moleküler hasarlı kaskadların anlaşılmasını geliştirmeye yöneliktir (57).

Hedeflerden bağımsız olarak, seçilen deney modelinin aşağıdaki kriterleri karşılması çok önemlidir:

- Yaralanmayı indüklemek amacıyla kullanılan mekanik kuvvet kontrol edilebilir, tekrarlanabilir ve ölçülebilir olmalı,
- Oluşan yaralanma tekrarlanabilir, ölçülebilir ve beşeri koşullara ait bileşenlerini taklit edebilecek nitelikte olmalı,
- Morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal veya davranışsal parametrelerle ölçülen yaralanma sonuçları, hasara neden olan mekanik kuvvet ile ilgili olmalı,

- Hasara yol açmak için kullanılan mekanik kuvvetin yoğunluğu sonuç ciddiyetini öngörmelidir.



Şekil 3. Travmatik beyin hasarının *in vivo* deneysel modellerinin şematik gösterimi

Mevcut literatürde farklı deneysel TBH modelleri sunulmaktadır. Denny-Brown ve Russell (1941) (58) tarafından yapılan çalışmada kafa travmaları, akselerasyon konküzyon ve perküsyon-konküzyon modelleri olarak iki önemli deneysel kategoriye ayrılmıştır.

Beynin viskoelastik doğası, hızlı kafa akselerasyonu karşısında önemli bir etkidir. Çok hızlı veya dinamik mekanik yükleme koşulları altında, viskoelastik beyin yüksek gerginlik bölgelerinde hasara neden olarak daha sert davranmaktadır. Doku hasarı açısından dinamik bileşen, tipik olarak TBH hayvan modellerinde benimsenen bir özellik olan 50 milisaniye (ms) içinde uygulanan mekanik darbedir (59).

Direkt dinamik modeller kapsamında yer alan kontrollü kortikal çarpma (CCI) modeli, ilk olarak Lighthall (1988) tarafından geliştirilen invaziv bir darbe yöntemidir. CCI modeli, deneysel omurilik yaralanması çalışmalarında kullanılan benzer

yöntemlerden uyarlanmıştır. Bu model, darbenin sağlanması süresince genellikle sabit tutulan hayvanın kafasıyla mekanik enerjiyi üretmek için katı bir çarpma düzeneği içermektedir. Bu modelde basınçlı hava, beyne baskı yapmak için mekanik enerjinin kaynağı olarak rol oynamaktadır. Basit ağırlık düşürme modeli ise, direkt fokal kortikal kompresyon oluşturmak için kullanılmaktadır. Adından da anlaşılacağı üzere ağırlık düşürme modeli, kafatasına sabitlenmiş bir metal plakadan faydalanmak veya en yaygın olarak doğrudan beyin üzerine bir kraniyotomi aracılığıyla kuvvet uygulamak amacıyla bir aparatından düşürülen ağırlık kullanılmaktadır. Bu model mikrodializ ile birlikte başarıyla kullanılabilir. Vakum deformasyonu ve sıvı perküsyon modelleri de literatürde kullanılan diğer modeller arasındadır (60).

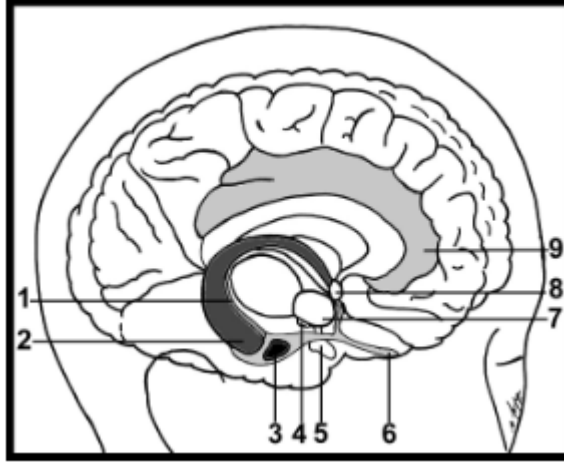
Sıvı perküsyon modellerinde orta hat çevresinde merkezi olarak ya da paryetal kemiğin üzerinde lateral olarak yapılan bir kraniyotomi boyunca bir sıvı basınç darbesi oluşturmak için bir sıvı rezervuarının pistonuna çarpan bir sarkaç tarafından gerçekleştirilir. Perküsyon, beyin dokusunun yer değiştirmesini ve deformasyonunu sağlamak ve yaralanma şiddeti basıncın titreşim (vuruş) kuvvetine bağlıdır (34).

Enjeksiyon modelleri ise kafa içine kan veya diğer sıvıların enjeksiyonu hematomların değişik tiplerinin oluşturulmasında kullanılmaktadır. Subdural mesafeye kan enjeksiyonu akut subdural hematoma taklit etmektedir. Buna benzer şekilde beynin içine kan enjeksiyonu yapılarak intraserebral hematoma oluşturulmuş ve beynin metabolizması ile kafa içi hemodinamik dengeler arasında ilişkiler üzerine çalışılmıştır (61).

4.2. Hipokampus ve Öğrenme-Bellek

Hipokampus, motivasyon ve duygu durum kontrolünü sağlayan bölge olup limbik sistemde bulunmaktadır. Hipokampus, çevreden gelen ve çevreye giden lifler açısından yoğun bir bölge olup duyguların kontrol edilmesinden sorumludur. Ayrıca öğrenme ve belleğe ilişkin işlevler, hipotalamo-adrenal eksen ve vejetatif süreçler ile de ilişkilidir. Neokortekste kısa süreli belleği uzun süreli belleğe dönüştüren bir işlem olan bellek birleştirilmesinde de önemli rolü bulunmaktadır (62). Prefrontal korteks ile birlikte çalışarak bilgileri birleştirerek belleğe kaydetmektedir. Hipokampus, nöroplastisitesi en yüksek beyin bölgelerinden biridir. Hipokampusta yeni nöron

oluşumu insanlar dahil olmak üzere birçok canlı türünde yaşam boyu devam etmektedir (63). Hipokampusun beynin yapısındaki konumu Şekil 4’te gösterilmiştir.

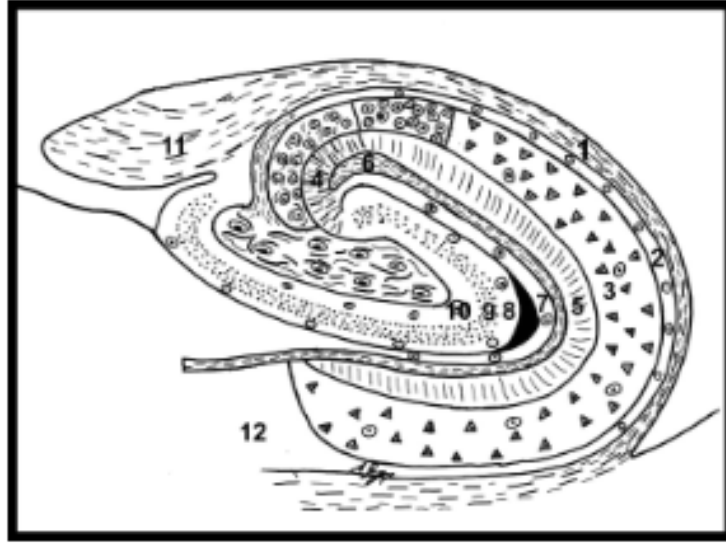


Şekil 4. Beynin iç görünümü 1. Gyrus dentatus, 2. Hippocampus, 3. Corpus amygdaloideum, 4. Corpus mamillare, 5. Hypophysis, 6. Bulbus olfactorius, 7. Hypothalamus, 8.commissura anterior, 9.gyrus cinguli. (64)

4.2.1. Hipokampusün Yapısı

Filogenetik açıdan beynin en eski bölümlerinden biri olan hipokampus, koronal kesitlerde C harfine benzeyen bir görüntüye sahiptir. Denizatına benzer şekli nedeniyle hipokampus olarak anılan bu yapının dış yüzünün koç boynuzuna benzemesi sebebiyle “cornu ammonis” olarak da anıldığı belirtilmiştir (64). Hipokampus bir gri cevher tabakasıdır ve lateral ventrikülün temporal hornu boyunca uzanmaktadır. Hipokampusta nöral plastisite hayat boyunca devam etmektedir. Hipokampus, singulat girus, hipotalamus ve amigdala birlikte “Limbik sistem”i oluşturmaktadır (65).

Hipokampusun ventriküle bakan yüzeyi konveks, hemisferin alt bölümüne bakan kısmı ise konkavdır. Geniş ve düz olan ön kısım ise “pes hippocampi” olarak adlandırılmaktadır. Pes hippocampi’de peçeye benzeyen ve “digitationes hippocampi” adı verilen iki ya da üç yüzeysel çıkıntı yer almaktadır. Hipokampusun tüm ventriküler yüzeyi kendi hücrelerinden gelen aksonların meydana getirdiği alveus ile örtülmüştür. Bu lifler medialde yassı bir bant biçiminde birbirine yaklaşarak “fimbria hippocampi” yi oluşturmaktadırlar. Fimbria hippocampi’nin ön ucu “uncus gyri hippocampi”nin beyaz cevherinde sonlanırken, arka ucu alveus ile “vrus fornicis”i meydana getirmektedir. Alveus’tan gelen ve fimbria’ya dahil olan lifler fornixsin başlangıcını oluşturmaktadır (65).



Şekil 5. Hipokampusun koronal kesit yapısı 1. Alveus, 2. Stratum oriens, 3. Stratum pyramidalis, 4. Stratum lucidum, 5. Stratum radiatum, 6. Stratum lacunosum, 7. Stratum moleculare, gyrus dentatus, 8. Stratum moleculare, 9. Stratum granulosum, 10. Stratum polimorfica, 11. Fimbria hippocampi, 12. Subiculum. (64)

Şekilde görüldüğü gibi histolojik olarak birçok katmandan meydana gelen hipokampusun genel anlamda literatürde ortak kabul edilen 7 temel tabakasının bulunduğu belirtilmektedir (65):

- Alveus: Alveus, en derinde bulunan tabaka olarak ifade edilmektedir. Ventrikül yüzeyine yakın konumdadır. Subikulum ve hipokampusa ait piramidal hücre aksonlarını içerisinde barındırmaktadır. Aksonlar alveusdan geçmektedir. Aksonlar ise hipokampusun en önemli çıktısı (output) olan fimbria/fornikse uzanmaktadır.

- Stratum oriens: Stratum oriens, piramidal hücrelerin bazal dendritleri ile internöronların yerleştiği tabaka olarak tanımlanmaktadır. Stratum oriensde yer alan birçok nöron aksonları alveus liflerine dahil olmaktadır. Bunun dışındaki hücre aksonları da, en derin yapıda içerisinde yer alan stratum molekulareye değin ilerlemektedir.

- Stratum pyramidalis: Stratum pyramidalis çevresinde büyük piramidal ve Golgi tip II hücreleri yoğun bir şekilde yer almaktadır. Piramidal hücre gövdelerinin yer aldığı kısım stratum pyramidalisdir. Bu tabaka çıplak gözle görülebilinecek bir

boyuta sahiptir. Piramidal hücrelerin tabanı hipokampusun ventriküler yüzeyine dönüktür ve bazal-apikal dendritleri komşu tabakalara (str. Lusidum) değin ilerlemektedir. Aksonları ise stratum oriens'ten geçerek alveus liflerine katılırlar. Aynı zamanda bu tabaka içerisinde Mossy (yosunsu) lifler ile yapılan sinapslar mevcuttur. Bunun yanı sıra birden fazla internöronun hücre gövdesi stratum pyramidalis içerisinde yer almaktadır. Piramidal hücrelerin dizilimi ile hipokampus asıl şekline ulaşmaktadır.

- Stratum lusidum: Stratum lusidum ise hipokampusun en ince tabakalarından birini oluşturmaktadır. Bu tabaka yalnızca CA3 bölgesinde yer almaktadır. Hücresel olarak yoğun bir içeriğe sahiptir. Ağırlık olarak motor tip piramidal hücrelerden meydana gelmektedir. Bunun yanı sıra CA3 alanındaki piramidal hücreler ile dentat girusun granüler hücreleri arasında bağlantı sağlayan yosunsu (mossy) lifler de bulunmaktadır. Beyinde yer alan en gelişmiş ağ yapısını bu lif şebekesi oluşturmaktadır. Bu yapı diğer primatlara nazaran insanlarda daha yoğun olmakta ve CA1 ile CA2 alanlarında yer almamaktadır.

- Stratum radiatum: Stratum oriense benzemektedir. Septal ve komissural lifleri içerisinde barındırmaktadır. Bununla birlikte Schaffer kollateral lifleri de mevcut olup, bu lifler CA3'den CA1'e projeksiyon lifleridir. Bu alanda yüzey kısmında bir takım internöronlar da yer almaktadır. (basket hücreleri, radial trilineer hücreler vb...).

- Stratum lakünozum: Stratum lakünozum ince bir tabakadır. Bu tabaka Schaffer kollateral liflerini barındırmaktadır. Fakat süperfisyal tabakadan entorinal kortekse uzanan bazı perforan lifler de stratum lakünozum içerisinde bulunmaktadır. İnce yapısı sebebiyle stratum moleküllere ile birlikte ifade edilebilmektedirler. Bu sebeple "stratum lakünozum-moleküllere" ismi altında tek tabaka şeklinde ele alınmaktadır.

- Stratum moleküllere: Stratum moleküllere en yüzeyel (dış) tabaka olarak ifade edilmektedir. Burada yer alan perforan lifler ve piramidal hücrelerin apikal dendritler yer almaktadır. Kimi araştırmacılar tarafından bu alan "stratum moleküllere" isimli bir tabaka şeklinde ifade edilmektedir. Kimi araştırmacılar ise 6. ve 7. tabakaları

birleştirek “stratum lakünozüm–molekölare” adı altında tek tabaka olarak incelemektedirler.

4.2.2. Hipokampusun İşlevleri

Hipokampusun epizodik bellek, ifadesel bellek, içerik ve uzaysal bellekte birincil öneme sahiptir. Hipokampusun bu işlevi yanında başta adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgısı olmak üzere vejetatif ve otonomik işlevleri kontrol eden bir rolü de vardır. Hipokampusun inme, kafa travması gibi etkilere, yaşlanma ve yineleyen stres etkilerine diğer beyin alanlarına göre daha duyarlı bir yapısı bulunmaktadır. Hipokampusta iki tip steroid reseptörleri de bulunmaktadır. Bunlar mineralokortikoid ve glukokortikoid reseptörleridir. Bu reseptörler ile nöronal uyarılabilirlik, nörokimyasal değişmeler ve yapısal plastisite kontrol edilmektedir. Bu etkilerde uyarıcı amino asitlerin ve N-metil-D-aspartat (NMDA) sisteminin birincil rolü vardır. Adrenal steroidler geri dönüşlü olarak hipokampal nöronların uyarılabilirliğini modüle ederler. Bu şekilde öğrenme ve bellekte önemli olan “uzun dönem potansiyalizasyon” (LTP-öğrenmenin temelini oluşturan süreç) sürecini değiştirmektedirler (66).

Tarihsel gelişim açısından 1948 yılına kadar hipokampusun yalnızca koku alma merkezi olduğu düşünölmüştür. Bu durum, olfaktor bulbustan direkt sinir lifleri aldığına dair yaygın inanıştan kaynaklanmıştır. Ancak sonraki dönemlerde koku yollarının gelişmediği bazı insanlarda, hipokampusun normal geliştiği gözlenmiştir. Ayrıca hipokampusun gelişiminin olfaktor bulbusa paralel olmadığı da gösterilmiştir. Ancak kokunun özellikle formatio reticularis ve hipokampus ile olan anatomik bağlantıları daha sonra açıkça ortaya konmuş ve bu nedenle zihinsel uyanıklık, hafıza ve dikkati etkilediği düşünölmüştür. Entorinal korteks ve olfaktor korteksten başlayan bir takım lifler hipokampusa gelmektedir. Bu bağlantı, kokunun belleği etkileyebileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Günümüzde birçok duyusal uyarının (görme, işitme, koku, dokunma, iç organ duyuları vs.) hipokampusu aktive ettiği bilinmektedir (67).

Modern yaklaşımlar açısından hipokampusun fonksiyonlarına yönelik gerçekleştirilen ilk bilimsel çalışmalar 1957 yılında Scoville ve Milner’in hipokampusun insan hafızasında önemli rol oynadığını bulmaları ile başlamıştır. Özellikle 2000’li yıllardan günümüze kadar yapılan çalışmaların genellikle

hipokampusun kendi içerisinde ve çevre dokular ile bağlantılarını inceleme üzerine yapılmıştır (68).

Henry Molaison, hipokampus konusunda Dünya'daki en fazla bilinen ve üzerinde araştırma yapılan hastadır. Bu hastaya 25 Ağustos 1953 tarihinde tedaviye dirençli epilepsi tanısı nedeniyle ünlü bir nöroşirürjiyen olan William Beecher Scoville tarafından “bilateral medial temporal lob rezeksiyonu” yapılmıştır. Bu epilepsi nedeniyle yapılan ilk bilateral temporal lobektomi ameliyatı olup daha çok deneysel amaçlı yapılmıştır. Ameliyattan sonra hastanın petit ve grand mal nöbetleri azalmakla birlikte devam etmiş ve hasta ölümüne kadar antiepileptik tedavi almıştır. Hastanın kalan 55 yıllık ömrü boyunca pür anterograd amnezisi olmuş, zeka ve anlık hafızası ise korunmuştur. Hasta, öldüğü 2008 yılına kadar pek çok nöropsikiyatrik ve radyolojik teste tabi tutulmuştur. Hastanın ölümünden hemen sonra çekilen 3 Tesla ve 7 Tesla manyetik rezonans incelemesinde çıkarılan beyin bölgelerinin medial temporopolar korteks, piriform korteks, tüm entorinal korteks, peririnal korteksin büyük kısmı ve subikulum, amigdala (dorsal, santral ve medial kısımları hariç), hipokampusun ön bölümü ve dentat girus (posterior baş ve gövde) olduğu anlaşılmıştır (69).

Algı ve bellek sistemleri arasında bağlantı kuran hipokampus, beynin birçok bölgesinden duyu lifleri almaktadır. Aldığı bu duyuları, forniks aracılığıyla hipotalamus, talamus ve septal sahaya iletmektedir. Bunun yanı sıra, hipokampus subkortikal alanlarla olan bağlantısı sayesinde, beynin birçok bölgesi ile iletişim halindedir. Öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerinde önemli role sahip olan hipokampus, yeni elde edilen bilgilerin depolanması ve anıların kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya geçirilmesinde görev alır. Bu nedenle hipokampusta meydana gelebilecek bir hasar, belirtilen fonksiyonlarda bozukluklara neden olabilir. Nitekim hipokampus lezyonlarında, anıların kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe alınmasında sorun olduğu gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, verbal veya sembolik anıların hafızada tutulmasının da mümkün olamayacağı ifade edilmiştir (70).

Cornu Ammonis'in baş harflerini temsilen “CA” olarak nitelendirilen hipokampus, hücre yapısına ilişkin değişikliklerden dolayı CA1, CA2, CA3 ve CA4 gibi farklı alanlara bölünmüştür (65). Bu yapılardan CA1 subikuluma, CA4 ise dentat

girusa en yakın olan alanlardır. Hipokampusun CA1 bölgesine ait nöronlar uzaysal öğrenme ve bellek açısından gereklidir. CA1 bölgesinin nöronları entorinal korteks ya da CA3 bölgesindeki verilerin alınarak işlenmesinden sorumludur. Hafızanın güçlü olması açısından sağlam bir CA3 ve CA1-CA3 bağlantısı gereklidir. CA3 bölgesi Schaffer kollateral lifler vasıtasıyla CA1 bölgesine bağlıdır. CA1 çıktıları subikulum, entorinal korteks ve prefrontal kortekse uzanmaktadır. CA1 iki farklı bölgeden girdileri almaktadır. Bu girdilerin en önemli bölümü CA3'ten, kalanlar ise entorinal korteksten gelmektedir. CA1 bölgesi bir hata dedektörü rolü üstlenmekte ve kortikal bilgiler ile CA3 ve entorinal korteksten gelen bilgiler arasında uyumsuzluk varlığını kontrol etmektedir. CA1 ve CA3'deki hücre sayıları adölesan dönemden önce daha az iken bu dönemden sonra giderek artmaktadır. Bu durum, adölesan dönemde uzaysal öğrenme ve belleğin gelişimine işaret etmektedir (71).

Hipokampusun endokrin fonksiyon üzerindeki etkileri de diğer bir araştırma alanını oluşturmaktadır. Örnek olarak hipokampusun ön bölgesinde stradiolü konsantre eden nöronlara rastlanmıştır. Sıçanlar üzerinde yapılan deneylerde ise hipokampusun uyarılması ile ovulasyonda inhibisyon olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra fornixin kesilmesi sonucunda ACTH salgılamında bozukluklar belirlenmiştir. Hipokampusun ayrıca heyecan yaratan reaksiyonlar ya da heyecanın kontrolü, iç organlara ilişkin aktivitelerin düzenlenmesi, serebral kortekste retiküler aktivitenin ayarlanması gibi işlevleri de bulunmaktadır (64).

4.2.3. Öğrenme

4.2.3.1. Non-asosiyatif Öğrenme

Non-asosiyatif öğrenme, öğrenmenin en basit şeklidir. Bu öğrenme şeklinde canlı, bir uyarıyı öğrenmektedir. Non-asosatif öğrenmede, daha çok basit omurgasız canlılar üzerinde fleksiyon, göz kırpma, korkma gibi refleks yanıtları üzerinde çalışılmıştır. Bu öğrenmenin iki alt tipi vardır. Bunlar; habituasyon ve sensitizasyondur. Habituasyon (alışma), implisit belleğin en basit şekli olarak bilinmektedir. Canlılar ilk defa karşılaştıkları olay ve çevreye karşı bir tepki geliştirmektedirler. Fakat tehdit oluşturmuyorsa, uyarının tekrarlanması sonucunda canlı bu uyarıya alışmaktadır. Canlının verdiği yanıt azalır ve kaybolur. Habituasyona örnek olarak, sessiz küçük bir kasabada yaşayan birinin, büyük şehirde çok gürültülü bir caddeye taşındığı ilk zamanlarda, sokaktaki gürültüden çok rahatsız olması ve

zaman geçtikçe gürültüyü fark etmemesi verilebilir. Sensitizasyon (duyarlılaşma), canlının bir uyarıya karşı beklenen bazal yanıtta daha güçlü bir yanıt vermesidir. Sensitizasyon, genellikle rahatsızlık verici başka bir uyarının ardından daha zayıf bir uyarı sunulduğunda, bu zayıf uyarana karşı verilen tepkide bir artış olarak meydana gelmektedir (72).

4.2.3.2. Asosiyatif Öğrenme

Asosiyatif öğrenme; bir uyarı ile bir davranış ya da iki uyarı arasında gelişen ilişkinin öğrenilmesidir. Asosiyatif öğrenim, klasik ve operant koşullanma şeklinde iki şekilde ele alınmaktadır. Klasik koşullanmanın Rus fizyolog Ivan Pavlov tarafından oluşturulan bu öğrenme modelinin temeli refleksif süreçlere dayanmaktadır. Bu temelde iki uyarı birbirine eşleştirilmektedir. Koşullu uyarılar; ses, ışık, dokunma şeklindeki unsurlardan meydana gelmektedir. Koşulsuz uyarı için yiyecek ya da şok şeklinde belirgin bir yanıt ortaya koyacak (salivasyon, ayağını geri çekme) uyarılar seçilmektedir. Koşulsuz yanıtlar öğrenme temelli değil içsel bir şekilde gerçekleşmektedir. Koşullu uyarının, koşulsuz uyarı ile beraber tekrarlayan uygulanması sonucunda, koşullu uyarıya koşullu bir yanıt verilmektedir. Operant (edimsel) koşullanma ise klasik koşullanmadan farklıdır. Bu koşullanma Edgar Thorndike tarafından geliştirilmiştir. Operant koşullanmada aç bir sıçan deney bölgesine bırakılmaktadır. Aç sıçan bölgede yer alan kola bastığı an ödül verilmektedir. Bu ödül yemektir. Bu durumu öğrenen sıçan acıktığında duvardaki kola başvurmaktadır. Operant koşullanma ödül ve ceza temelinin meydana getirmeye birlikte ve davranış sonuç ilişkisini sunmaktadır. Sonucun olumlu olması davranışın devamına, olumsuz olması ise davranışın son bulmasına sebep olmaktadır (73).

4.2.4. Bellek

4.2.4.1. Belleğin Sınıflandırılması

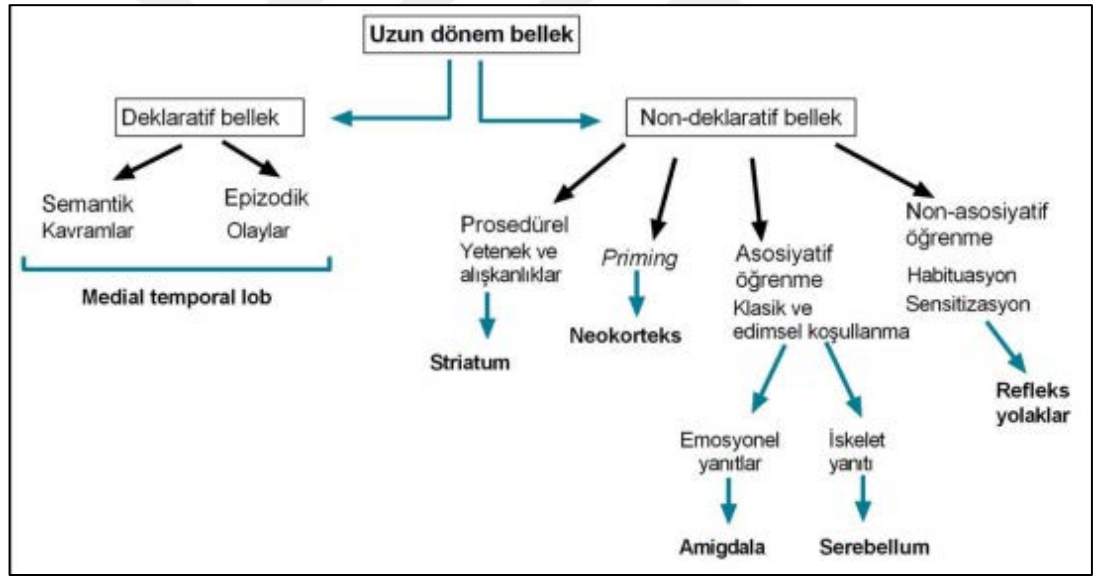
4.2.4.1.1. Kısa Süreli Bellek

Belleğin hızlı ve erken evreleri duyuşsal ve algısal uyarılarla ilgilidir. Duyuşsal bilgiler saniyeler ya da birkaç dakika içinde kısa dönem belleğe dönüştürülür. Kısa dönem belleğin üç temel bileşeni; duyuşsal bellek (sensory memory), kısa dönem depolanma (short-term storage) ve işler bellek (working memory)'tir. Kısa süreli bellek iki yönlüdür. Yeni algılanan duyuşsal verilerle ilişkili olduğu gibi, uzun dönem bellek depolarından yeni geri çağrılan bilgilerle de ilgilidir. Bu nedenle kısa süreli

bellek hem bir giriş merkezi hem de çıkış merkezi görevini üstlenmiştir. Kısa dönem belleğin ilk komponenti, yeni tanışılan bir kişinin yüzü gibi yeni algılanan duyuşal verilerle ilgilidir. Algılanan duyuşal uyarımın kısa dönem belleğe geçişindeki ilk basamak kısa dönem depolanmadır. Bu aşamada duyuşal uyarım ne kadar güçlü ve açıksa kısa süreli belleğe geçişi o kadar belirgindir. Duyuşal bellek, uyarımın türüne göre uyarı işitselse ekoik, görselse ikonik bellek olmak üzere iki grupta incelenmektedir (74).

4.2.4.1.2. Uzun Süreli Bellek

Kısa dönem bellek ve işler bellekte bilgiler çok kısa süreler saklanabilmesine rağmen uzun dönem bellekte (long term memory, LTM) bilgiler yıllarca saklanabilir. Uzun dönem belleğin saklanan bilginin içeriğine göre sınıflandırılması ve ilişkili oldukları beyin bölgeleri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 6).



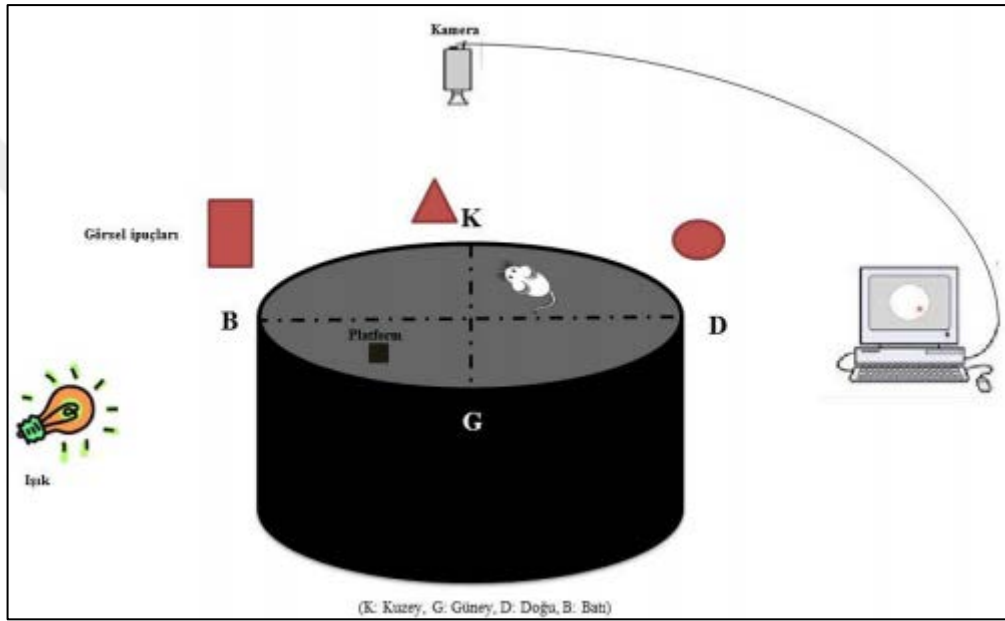
Şekil 6. Uzun dönem belleğin yaplanması

Bilgilerin bu kadar uzun süre saklanabilmesi LTM'nin altında yatan moleküler mekanizmalarla ilgilidir. LTM'nin oluşabilmesi için sinaptik gücün artması, yeni sinapsların oluşması, nörotransmitter salınması ve protein sentezi gereklidir (74).

4.2.5. Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi

Morris su labirenti, 1981 yılında sıçan ve farelerde hipokampusla bağılı uzaysal öğrenme ve bellek çalışmaları için radyal labirentine alternatif olarak Richard G. Morris

tarafından geliştirilmiştir. Morris su labirenti nispeten daha az hayvan sayısı ile çalışma, deneyi basit ve hızlı bir şekilde yürütme, ön eğitime gerek duymama, uzaysal öğrenmeyi ve uzun dönem belleği ayırt etme, görsel ve motor performanslar gibi uzaysal olmayan yetenekleri test etme, koku algısının azalması, elektrik çarpması veya gıda yoksunluğu gibi hoş olmayan prosedürlerin olmaması ve cihazın düşük maliyetlerle kurulabilmesi gibi avantajları nedeniyle davranışsal nörobilim alanında en çok tercih edilen modellerden biridir (75). Morris su labirenti, kemirgenlerin (fare, sıçan) dairesel bir havuz içinde uzaysal ipuçlarından faydalanarak sudan kaçıp, gizlenmiş veya görünür bir platforma ulaşmaya çalıştıkları düzendir (Şekil 7).



Şekil 7. Morris su labirenti düzeneği

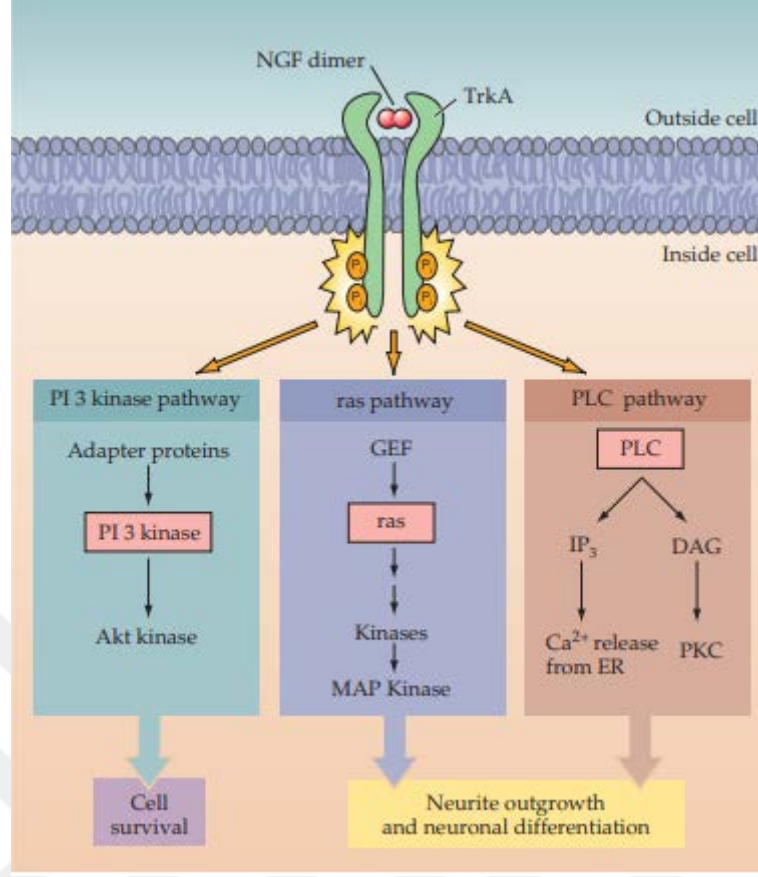
4.3. Nörotrofik faktörler

Nöroembriyolojik araştırmalara göre intrauterin dönemde nöron migrasyonunun tamamlanması ardından SSS matürasyonu bakımından iki önemli olay daha gerçekleşmektedir. Bu olaylardan birincisi, akson gelişimi aracılığıyla beynin farklı bölgeleriyle bağlantı sağlanmasıdır. İkinci önemli olay ise, uygun nöron çiftlerinin sinaptik bağlantılar oluşturmalarıdır. Bu iki olay sonucunda nöronal ağ oluşumu tamamlanmaktadır. Nöronal ağ oluşum sürecinde, hücreler arasındaki iletişime benzer şekilde bazı sinyal molekülleri, sinyal reseptörleri ve ikincil haberci moleküller görev almaktadır. Hücre yüzeyindeki hücre adezyon moleküllerinin (CAM), uygun reseptörlere bağlanması ardından hücre içindeki kinazlar, fosfatazlar ve proteazlar gibi sinyal molekülleri aktive olmaktadır. CAM'lara ait iki gruptan ilki, kalsiyum

bağımlı CAM'lar veya kadherinler olarak bilinmektedir. Bu grup sadece kalsiyum varlığında adezyon göstermektedirler. İkinci grupta ise kalsiyum bağımlı olmayan ve nöronal hücre adezyon molekülü (NCAM) adı verilen bileşikler yer almaktadır. Aksonal gelişimde CAM ve NCAM yanı sıra laminin, kollagen ve fibronektin gibi bazı ekstrasellüler matriks adezyon molekülleri de rol oynamaktadır. Bu ekstrasellüler adezyon molekülleri, hücre yüzeyindeki integrin reseptör proteinine bağlanarak aksonların uzaması ve büyümesine yol açan bir dizi reaksiyon başlatmaktadır. Aksonların büyümesi ve hedefi bulmasını sağlayan diğer bir uyarı, aksonun sinaps yapacağı hedef hücreden gelmektedir. Bu uyarı, nöron uzantılarına rehberlik eden tropik faktörler ve nöronun büyüme-sağkalım işlevini destekleyen trofik faktörler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bir aksonun sinaps yapacağı hedefe ulaşması ardından yaşamını sürdürmesi ve farklılaşması, hedef hücreden salınan trofik faktörlere bağlıdır. Gelişmekte olan nöronun akson ve dendritleri hedef hücre ile temas kuramadığında, o nöron ölmektedir (76).

4.3.1. NGF

En iyi bilinen trofik faktörlerden birisi sinir büyüme faktörüdür (NGF). Yenidoğan farelere ekzojen NGF enjeksiyonunun sempatik gangliyon hücrelerinde sayı ve boyut olarak artışa neden olduğu gösterilmiştir. Son yıllardaki çalışmalar NGF'nin birçok trofik molekülü içeren ve nörotrofinler denen geniş bir aileye ait olduğunu göstermiştir. Nörotrofin ailesine ait bilinen en az üç nörotrofik faktör grubu daha vardır. Bunlar; beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4/5 (NT-4/5)'tir. Nörotrofinler aminoasit dizilimleri açısından birbirlerine çok benzemelerine rağmen işlevsellik açısından farklı ve özgün moleküllerdir. Örneğin NGF sempatetik nöronların büyüme ve gelişmesini uyarırken, BDNF bazı sensöriyel gangliyon hücrelerini uyarmaktadır. NT-3 ise bu işlevlerin her ikisini birden gösterebilmektedir. Nörotrofinlerin bu seçici işlevselliği, Tirozin Kinaz (Trk) adı verilen özel bir grup reseptör ailesi üzerinden etki etmelerine bağlıdır. TrkA NGF'nin, TrkB BDNF ile NT-4/5'in ve TrkC NT-3'ün reseptörüdür. Trk reseptörlerinin nörotrofinlerce uyarılması hedef nöronlarda trofik interaksiyondan sorumlu olaylarla ilgili genlerin ekspresyonuna neden olmaktadır (76).



Şekil 8. NGF'nin etki mekanizması (77).

NGF, iki farklı tirozin kalıntısında TrkA'nın fosforilasyonunu indüklemek için plazma membranı üzerinde yüksek afiniteli bir tirozin kinaz reseptörüne (TrkA) bağlanmaktadır. Bu fosforile edilmiş tirozinler, adaptör proteinleri veya fosfolipaz C (PLC)'yi desteklemekte ve bu da üç ana sinyal yolunu aktive etmektedir. Bu yollar; Akt kinazın aktivasyonuna yol açan PI 3 kinaz yolu, MAP kinaz aktivasyonuna yol açan ras yolu ve PLC intrasellüler Ca^{2+} salınımına ve PKC'nin aktivasyonunu sağlayan yoldur. Ras ve PLC yolakları temel olarak nöronal farklılaşmadan sorumlu süreçleri uyarırken, PI3 kinaz yolağı, esas olarak hücre sağkalımına dahil olmaktadır (77).

4.3.2. BDNF

1980'li yılların başında Yves Barde, Hans Thoenen ve meslektaşlarının öncü çalışmaları sayesinde beyinden türetilen nörotrofik faktör (BDNF) olarak adlandırılan bir faktör belirlenmiştir. NGF'de olduğu gibi bu faktör, duyuşal nöronların sağkalımı ve akson gelişimini destekleme kabiliyeti temelinde saflaştırılmıştır. Bununla birlikte BDNF'nin çok küçük düzeylerde eksprese edilmesi nedeniyle proteinin tanımlanmadan önce milyonlarca kat saflaştırmanın gerekli olduğu belirtilmiştir. Daha

sonra rekombinant DNA teknolojisi, mevcut olan saflaştırılmış az miktardaki BDNF proteinini kullanarak bile hızlı ilerlemeler sağlamıştır. 1989 yılına gelindiğinde, Barde'nin grubu BDNF için cDNA'yı klonlamayı başarmıştı. BDNF'nin şaşırtıcı bir şekilde tamamen farklı kökenine ve farklı nöron özgüllüğe rağmen, NGF'nin yakın bir türü olduğu ortaya çıkmıştır (77).

4.4. N-Metil-D-Aspartik asit reseptörü

Bellek deposunun önemli yapılarından olan hipokampusun üç büyük yolağında biri olan Schaffer kollateral yolakta, uzun süreli potansiyalizasyon postsinaptiktir ve transmitter olarak glutamat kullanmaktadır. Schaffer kollateral yolaktaki uzun süreli potansiyalizasyon, NMDA tip glutamat reseptör aktivasyonu ile başlamaktadır. Moleküler yapıları, elektrofizyolojik ve farmakolojik özelliklerine göre glutamat reseptörleri iyonotropik ve metabotropik kanallara olmak üzere iki büyük gruba ayrılmaktadır. İyon kanalı bağımlı reseptörler olarak da bilinen ve Ca^{+2} aracılığı ile çalışan kanallara olan iyonotropik glutamat reseptörleri, AMPA (alfa-amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-propionik asit), kainat ve NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörlerinden oluşmaktadır (78).

Beyinde eksitator postsinaptik potansiyeli meydana getiren NMDA reseptör kanallarının üç özelliği bulunmaktadır (79):

- Yüksek iletkenliğe sahip iyon kanallarını kontrol ederler (50 pS) ve Na^{+} ile K^{+} 'un yanı sıra Ca^{+2} 'a da geçirgendirler.

- Kanalın açılması bir ko-faktör olarak glisin ekstrasellüler olarak bulunmasına bağlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda ekstrasellüler glisin yoğunluğu NMDA reseptör kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır. Kinürenik asit ve aminoksalinedikarboksilik asidin her ikisinin çoğu türevleri glisin bölgesinin kompetatif antagonistleridir.

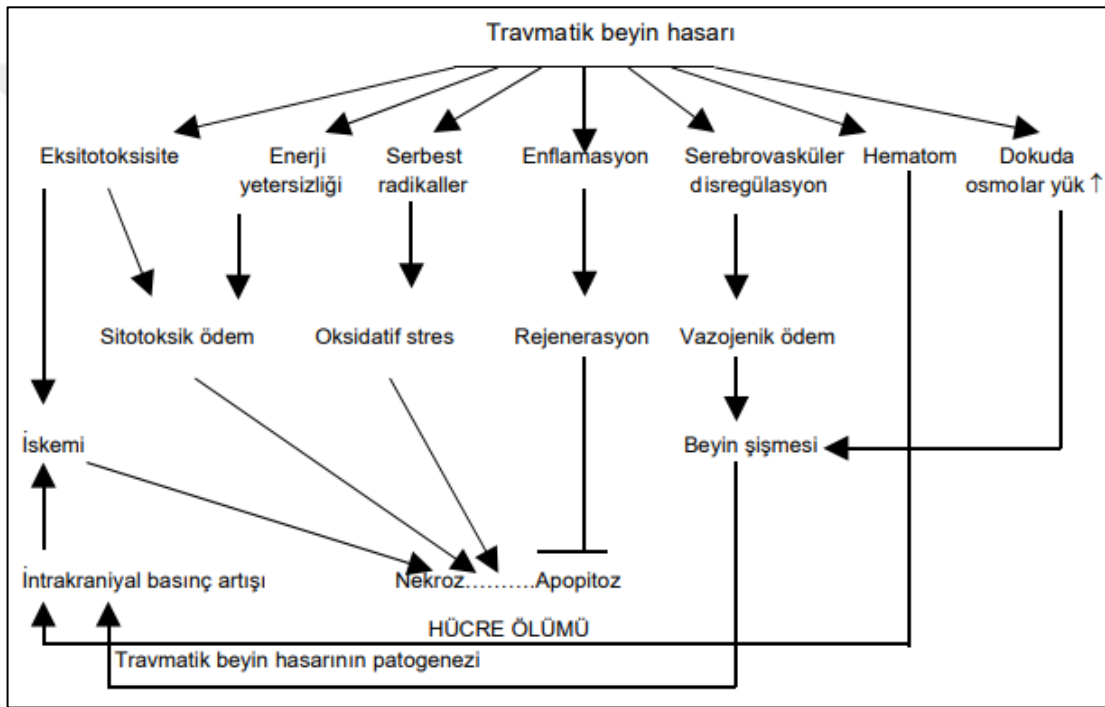
- Açılması kimyasal habercilere bağlı olduğu kadar membran potansiyeline de bağlıdır. Bu özellikleri, NMDA reseptörlerini diğer voltaj kontrollü kanallardan ayıran bir özelliktir.

Schaffer yolakta uzun süreli potansiyalizasyon birçok afferent aksonun uyarılmasını gerektirmektedir. NMDA reseptör kanalından Ca^{+2} 'un geçebilmesi için glutamatın postsinaptik NMDA reseptörüne bağlanması veya postsinaptik hücrenin membran potansiyelinin birçok afferent aksonun aynı anda tetiklenmesi ile kanalın ağzından Mg'u uzaklaştıracak kadar depolarize olması gereklidir (80). Kortikal glutamatın bağlanmasını sağlayan NMDA alt tipi reseptörleri erken ergenlik döneminde artış gösterirken daha sonra azalmaktadır. Glutamat ve NMDA reseptörleri, özellikle ergenlikte limbik bölgenin yeniden yapılanmasındaki nörokimyasal süreçte önemli rol oynarlar (81).

Glutamat ya da L-Glutamik asit santral sinir sisteminin ana eksitator nörotransmitteri olarak kabul edilmektedir. Yaklaşık olarak nöronların %60'ı ve sinapların %40'ı glutamaterjik yapıda olduğu belirtilmektedir. Glutamat beyinde kognisyon, bellek ve algı gibi birçok fizyolojik fonksiyonlarda görev alan majör eksitator nörotransmitterdir. Glutamat beyin gelişiminde, nöronal göçte, nöronal farklılaşmada, akson oluşumunda ve nöronal yaşamda da önemli görev almaktadır. Sinir sisteminde, nöroplastisitede, sinaptik etkinliğin ve sinaps yapılarının değişiminde merkezi rol oynamaktadır. Bu işlevler bellek ve diğer bilişsel fonksiyonlarla ilişkilidir (78). Sinaptik aktivite, sinaptik boşlukta geçici lokal glutamat konsantrasyon artışına neden olmaktadır. Glutamatın yaşam için gerekliliği yanı sıra merkezi sinir sisteminde konsantrasyon değişikliğinin toksik etki oluşturduğu bilinmektedir. Glutamata bağlı yıkım sürecinin travmatik hasar, oksidatif stress, toksik biyokimyasal ajanlar ve otoimmün hastalıklar tarafından tetiklenebileceği belirtilmiştir (82).

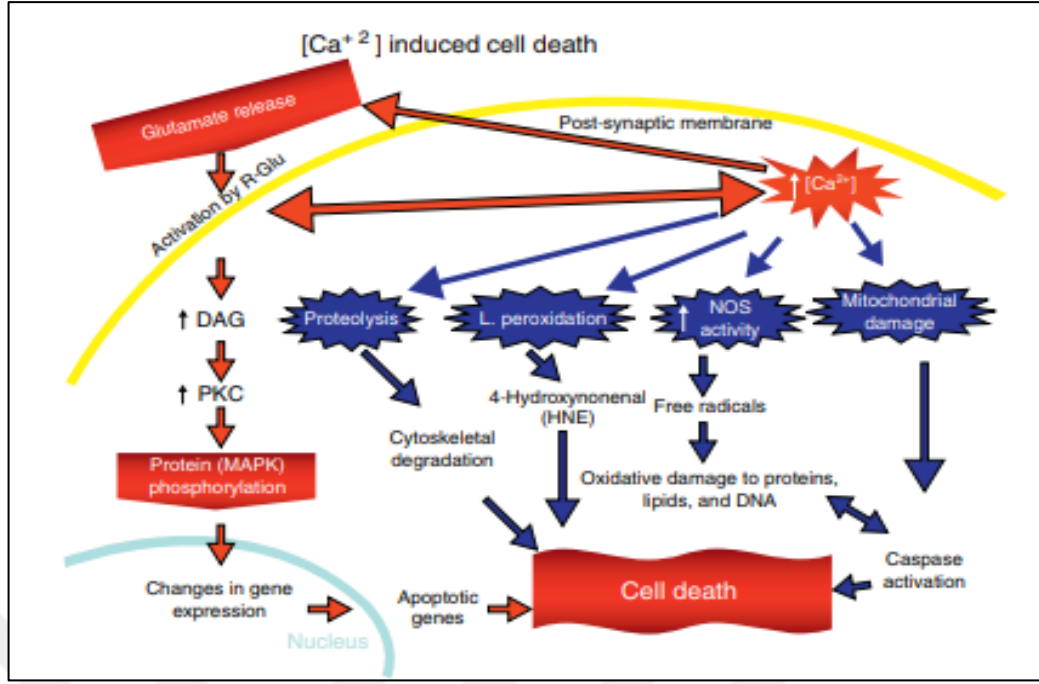
Genellikle sinaptik aralığa salınan glutamat konsantrasyonunun yüksek düzeylere çıkabildiği ancak yüksek konsantrasyonun yalnızca birkaç milisaniye sürdüğü tespit edilmiştir. Bu sürenin uzaması sonucunda nöronal glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması, nöronların öldürücü bir eksitasyona maruz kalmasına yol açmaktadır. Eksitotoksitenin serebral hasarlar sonrasındaki yıkımdan sorumlu olduğu, hipoksi ve serebral etkilerine yönelik çalışmalar sonucunda fark edilmiştir. Deneysel hayvan çalışmalarında glutamat reseptör antagonistlerinin mikroenjeksiyonu sayesinde iskemiye bağlı nöronal hasarlanmanın önlenildiği belirlenmiştir. Rodent ve primatlarda glutamat antagonistlerinin stroke ve kafa travmasında nöroprotektif olduğu bildirilmiştir (83).

Eksitotoksik mekanizmaların diğer akut nöronal hasarlanma durumlarında da rol oynadığı bilinmektedir. Bu nöronal hasarlanmalar hipoglisemi, travma ya da status epileptikus gibi uzamış nöronal deşarj durumları olabilir. Travmatik beyin hasarının patogenezinde de hipoksikiskemik hasara benzer şekilde enerji yetmezliği, serbest radikallerin artışına bağlı oksidatif stres, eksitotoksisite, ayrıca serebrovasküler disregülasyon sonucu bir yandan iskemi, diğer yandan vazojenik ödem ve beyin şişmesine sekonder gelişen intrakraniyal basınç artışı hücre ölümünden sorumludur (Şekil 9).



Şekil 9. Travmatik beyin hasarı etkileri (76)

Şekil 9’da travmatik beyin hasarı sonrasında eksitotoksisitenin sitotoksik ödem oluşumuna yol çararak nekroz, apoptoz, iskemi sonucu hücre ölümüne neden olduğu görülmektedir. Eksitotoksik hücre ölümünün gerçekleşmesinde glutamatın (genellikle NDMA) rolü Şekil 10’da tasvir edilmiştir.



Şekil 10. Glutamat kaynaklı eksitotoksik hücre ölümü

Glutamat reseptörlerinin, özellikle NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonu, bazı hastalıklarda yer alan nörodejenerasyon ve hücre ölümüne neden olan işlemlerden biridir. Bu durum, hücre içi Ca^{2+} artışına yol açmakta ve böylece hücre zarının, endoplazmik retikulum (ER) ve mitokondrinin lipid peroksidasyonuna (LP) neden olmaktadır. Bu LP, peroksinitritleri oluşturan nitrik oksit (NO) ve süperoksit radikalleri (O_2^-) üretimine bağlıdır. Membranlarda lipitlerin perokside edildiği zaman membran taşıyıcılarının ve iyonik kanalların aktivitesini değiştiren 4-hidroksinonenal üretimi de gerçekleşmektedir. LP ayrıca eksitotoksik sürecin bir parçası olarak Na^+/K^+ ATPaz kanalına, glikoz taşıyıcıları ve glutamata hasar vermekte ve iyonik homeostaziyi bozmaktadır, bu da ER ve mitokondrideki ATP tedarikini tehlikeye atmaktadır. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonundaki artış, farklı Ca^{2+} bağımlı enzimlerin (proteazlar, nükleazlar ve fosfolipazlar) aktivasyonu gibi hücrel apoptoza bağlı hücre içi sinyal yollarının aktivasyonunu sağlar (84).

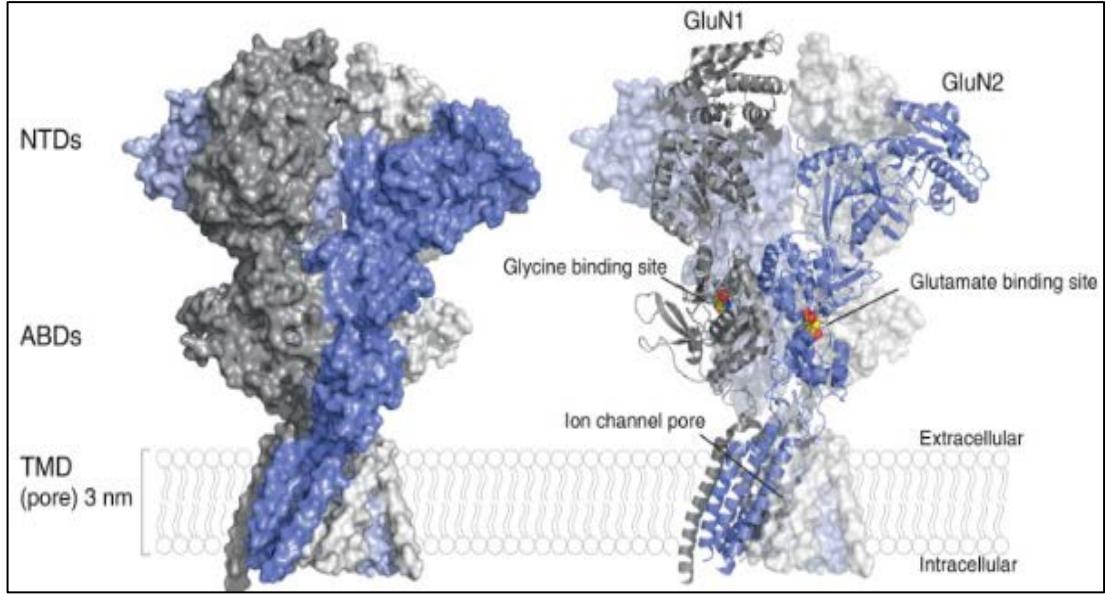
4.4.1. NMDA Reseptörünün Yapısı

Rekombinant reseptörler üzerine yapılan çalışmalar, reseptör özelliklerinin NMDA reseptörleri alt birimleri tarafından nasıl tanımlandığına dair yeni yaklaşımlar sağlamıştır. Lokal reseptörlerin olası alt birim kompozisyonu, spesifik alt birim genleri silinen hayvanlar kullanılarak altbirim mRNA veya protein dağılımı incelenerek veya

lokal ve rekombinant NMDA reseptörlerin fonksiyonel özelliklerini karşılaştırarak anlaşılmıştır. Bu yaklaşımlar, spesifik alt birimler ile ilişkili reseptör kanalı özelliklerinin belirlenmesini mümkün kılmış ve NMDA reseptör alt birimlerinin belirli sinapslarda iletim özelliklerine olan etkisini göstermişlerdir (85).

NMDA reseptörleri, NR1 alt birimleri ve beraberinde NR2 alt birimlerinin en azından bir tipinden oluşan heteromerik yapılardır. NR2 alt birimlerinden gelen domainler, glisin bağlanma bölgesini oluşturmaktadır. Membrana doğru dizilmiş her glutamat reseptör alt birimi, farklı yaklaşımların bir bileşkesinden ortaya çıkarılmıştır. Çalışmalarda NMDA-R, AMPA-R ve kainat reseptör alt birimleri 3 adet membrana uzanan domain içermektedir (M1, M3 ve M4). M2 domaini ise membrana sitoplazmik kenardan daldırılmış bir helezon şekli oluşturmaktadır. Her NMDA-R alt birimi geniş bir ekstrasellüler N-terminal domaini ve intrasellüler C-terminali içermektedir (79).

Intrasellüler bölgede, domainler lokal GluN1-GluN2 heterodimerleri olarak düzenlenmekte ve iki katmanlı bir simetri eksenine sahip dimer içi organizasyon sergilemektedir. AMPA ve kainat reseptörleri gibi N-terminal ve agonist bağlayıcı bölgelerin katmanları arasındaki alanların eşleştirilmesinin farklı alt birimler içerdiği ve böylece büyük hücre dışı bölgeyi bir araya getirecek şekilde “değiş tokuş” (alt birim olarak da bilinir) alanı oluşturduğu görülmüştür. Sonuç olarak, GluN1 ve GluN2 alt birimleri, tüm reseptörde iki adet eşdeğer olmayan konformasyon sergilemektedir. N-terminal bölge katmanında bulunan GluN2 alt birimleri, genel simetri eksenine GluN1 alt birimlerinden daha yakındır (86).



Şekil 11. NMDA reseptör yapısı. *Soldaki görüntü:* Hetero-tetramerik GluN1/GluN2B reseptörünün X-ışını yapısı (PDB: 4TLM, yüzey gösterimi). İki GluN1 alt birimi farklı gri tonlarında ve GluN2B alt birimlerinde farklı mavi tonlarında temsil edilmiştir. Reseptör, 'tepenin NT üst kısmında N-terminal bölgeler, GluN1'deki agonist bağlayıcı bölgeler bağlayıcı glisin (veya D-serin) ve GluN2'de glutamat ve iyon kanalı gözenği içeren TMD ile katmanlı bir düzenlemeye sahiptir. *Sağdaki görüntü:* ortosterik bölgenin GluN1 (glisin bağlı) ve GluN2 (glutamat bağlı) ve transmembran bölgesinde iyon kanal gözenek yeri. İki ön alt ünite (gri GluN1, mavi GluN2) karikatür gösterimindedir (86).

4.4.2. NMDA Reseptör Türleri

NMDA reseptörlerinin NR1, NR2A-B-C-D ve NR3A-B olmak üzere yedi alt türü bulunmaktadır. NMDA reseptörleri beynin her bölümünde yaygın olarak görülse de baskın oldukları bölüm ön beyindir. NMDA reseptörlerinin en fazla miktarda buldukları bölüm ise hipokampusün CA1 bölgesidir (87, 84).

- NR1: Glisin bağlayıcı bölgeyi içermektedir. 105,5 kDA ağırlığında, 938 aminoasitten meydana gelmiştir. NR1 reseptör alt tip ekspresyonu santral sinir sisteminde hemen hemen her yerde bulunmaktadır. Sıçan embriyosunda gestasyonun 14. gününde ekspresyonu başlayan NR1 subüniti doğum sonrası 3. haftaya kadar artarak yükselmektedir.

- NR2: Glutamat bağlayıcı bölgeyi kapsamakta ve 4 alt birimi bulunmaktadır.

- NR2A: Beyinde postnatal eksprese edilmektedir. 165.5 kDA ağırlığında ve 1464 aminoasitten meydana gelmiştir. Ekspresyonu için yüzeyde NR1 N-terminalinin

bulunması gereklidir. NR2A mRNA'sı tüm beyinde yaygın olarak bulunmakta ancak serebral korteks, hipokampus ve serebellumda daha yoğun olarak bulunmaktadır.

•NR2B: Tüm embriyonik beyinde ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak miyositlerde eksprese edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde eksprese edilir. 1482 aminoasitten oluşmakta ve 165,9 kDA ağırlığındadır. NR2B'nin ekspresyonu ön beyinde, serebral korteks, hipokampus, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır.

•NR2C: Postnatal olarak serebellumda eksprese edilmektedir. 1239 aminoasitten oluşmakta ve 135,4 kDA ağırlığındadır. NR2C'nin ekspresyonu ise serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusta ve olfaktor bulbusta daha az olarak bulunmaktadır.

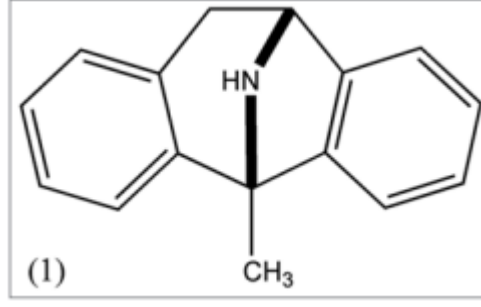
•NR2D: Diensefalon ve beyin sapında embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. 1323 aminoasitten oluşmakta ve 142,9 kDA ağırlığındadır. NR2D'nin ekspresyonu orta beyin ve arka beyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamusta, olfaktor bulbusta ve beyin sapında bulunmaktadır. NR2A ekspresyonunununa tamamlayıcıdır.

•NR3: Silik fonksiyon gösterir. NR3A ve NR3B olarak iki tiptir. Ca^{+2} geçirgenliği yavaş ve uzun sürer. NR3A serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), orta beyin, arka beyin ve spinal kortta eksprese edilmektedir. Neonatal ekspresyonları çok güçlüdür, sonra azalmaya başlamaktadır. NR3B'nin eksprese edilmesi motor nöronlarla sınırlıdır. NR2 alt birimi gibi NR3 de düzenleyici bir alt birimdir ve varlığı NR1 / NR2 heterodimerlerinin aktivasyonu ile oluşan iyonik akımları azaltmaktadır (79).

4.5. MK-801 (Dizocilpine maleate)

4.5.1. MK-801 ve Genel Özellikleri

Rekabetçi olmayan bir NMDA reseptör antagonisti olan MK-801 (Dizosilpin), hem hayvan modellerinde hem de insan deneklerde şizofrenide görülenlere benzer bir nörokimyasal ve davranışsal değişiklik deseni üretebilir. NMDA-R antagonistleri ile tedavi, hayvan modellerinde glutamaterjik sistemleri değiştirerek hem pozitif hem de negatif semptomlar oluşturmaktadır (88). MK-801, çoğu anestezik ve antikonvülsan özellikler gibi merkezi sinir sistemine yönelik çeşitli fizyolojik aktiviteler göstermektedir (89).



Şekil 12. Dizosilpin MK-801 kimyasal yapısı. Bu ikincil-amin esas olarak bağlantı mekanizması ve fizyolojik aktivite ile ilişkilidir.

MK-801 gibi NMDA antagonistleri, sıçanlarda sensorimotor geçişini bozmakta, bu etki ile şizofrenide sergilenen eksikliklerin giderilebileceğini düşündürmektedir. MK-801, inme, travma, Parkinson hastalığı ve organofosfatın neden olduğu nöbet modellerinde iyi bilinen bir nöroprotektandır (89).

4.5.2. MK-801 ve NMDA'ya Bağlanma Mekanizması

Son yıllarda, NMDA glutamat reseptör sisteminin şizofreni tedavisinde potansiyel bir rolü olmasına ilişkin araştırmalar yapılmıştır. NMDA blokajı yapan diğer ilaçlarla yapılan ardışık araştırmalar akut psikotik reaksiyonları tetiklemekte ve bu nedenle NMDA glutamat reseptör fonksiyonundaki bozukluğun şizofreni patofizyolojisinde model olabileceği görülmüştür. NMDA reseptör blokajı sonucunda serebral kortekste eksitator nörotransmitterlerin fazla salınımı ve postsinaptik nöronların ardışık stimülasyonu NMDA reseptör hipofonksiyon (NMDARHipo) durumunu oluşturacağı ve görülen davranış değişikliklerini açıklayabileceği öngörülmüştür (90, 91).

Beyinde en yaygın kullanılan eksitator amino asit olan glutamat, iyonotropik ve metabotropik reseptörleri uyarmaktadır. Serebral iskemi veya hipoksiden sonra, reseptörlerinin aşırı uyarılmasına neden olan ve hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunda bir artışa yol açan glutamat salınımı mevcuttur. Ca^{+2} iyonunun artmasının; proteazları, lipazları, endonükleazları ve nitrik oksit sentazları aktive ederek ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunu teşvik ederek nöronları dejenere eden çeşitli patolojik prosesleri harekete geçirdiği varsayılmaktadır. MK-801 ile tedavi edilmiş sıçan hipokampal nöron kültürleri nöroprotektif etki göstermektedir. MK-801'in, iskemik hasara karşı nöroproteksiyon alanındaki inhibitör amino asitlerin salınımı üzerindeki

etkisi araştırılmıştır. İskeminin neden olduğu beyin hasarına karşı koruma, en azından kısmen, kalsiyum akışının inhibe edilmesi ve daha da önemlisi iskemik sinaptozomlardan dışarı çıkan amino asit salımının bloke edilmesi ile ilişkilidir. İlgili bir çalışmada, paraquat veya ksantin oksidazın NMDA reseptörünü aktive ettiği ve sonuçta ortaya çıkan uyarıcı amino asit glutamatın eksitotoksisteye yol açtığı gösterilmiştir. Dizosilpin, bir antioksidan olarak işlev gören bu oksidan hasarı hafifletmektedir (89).

NMDA reseptörlerinin yapısında bulunan amino-termal bölgeler alt GluN1-GluN2B NMDA reseptörlerini inhibe eden ve bunun için umut vaat eden ifenprodil ve Ro 25-698 gibi allosterik modülatörlerin bağlanması için alt-birim-spesifik reseptör düzeneğinin merkezi olup, Parkinson ve Alzheimer hastalıklarının tedavisi için umut vadeden bir tedavi seçeneğidir. PH bağımlı GluN2B-seçici inhibitörleri, travmatik beyin hasarında nöroprotektiftir ve beyin hasarını minimal yan etkilerle tedavi etmek amacıyla bazı çözümler sunmaktadır. Ayrıca MK-801 (dizosilpin) ve memantin dahil olmak üzere, transmembran bölgeyi hedef alan küçük moleküller, eksitotoksiste ile ilişkili bozuklukların tedavisi için umut vaat etmektedir. MK-801 inme, travma ve Parkinson hastalıklarının hayvan modellerinde kullanılan nöroprotektif bir ajandır, ancak psikotik davranış ve nöronal dejenerasyona neden olabilir. Muhtemelen reseptörü üzerindeki yüksek afinitesi ve uzun süreli kalma süresinin bir sonucu olan MK-801'in yan etkileri klinik uygulamayı zorlaştırmaktadır (92).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada immatür sıçanlarda uygulanan deneysel künt kafa travmasının ve travma sonrası akut uygulanan MK-801'in beyin dokusu ve uzaysal bellek fonksiyonu üzerine uzun dönem etkileri incelenmiştir. Bunun yanı sıra travma ve MK-801'in nöronların yaşamı ve farklılaşmasında önemli yeri olan NGF, BDNF ve NMDA-R ekspresyonuna etkileri immunohistokimyasal ve ELISA yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Ayrıca astrosit aktivasyonunun bir işareti olarak kullanılan GFAP ekspresyonu immunohistokimyasal olarak incelenmiştir.

Araştırmada beyin gelişiminin en hızlı olduğu dönem içinde bulunduğu bilinen 7 günlük yavru sıçanlar kullanılmıştır. 7 günlük yavru sıçanlara hafif eter anestezisinin ardından ağırlık düşürme modeli ile travma uygulanmıştır. Travmadan sonra tüm yavrular elektrikli battaniye üzerinde toparlanıncaya kadar bekletilmiştir. Travma ardından 4 saat sonra yavrular annelerinin yanıda geri bırakılmıştır. Üç grup yavru sıçanlara (kontrol, travma ve travma+ MK-801) 4 aylık olduğunda, açık alan testi ve sonrasında 5 günlük öğrenme-bellek deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneylerin bitiminde morfolojik, histolojik ve biyokimyasal değerlendirme amacıyla sakrifiye edilerek beyinleri çıkarılmıştır.

5.1. GEREÇ

5.1.1. Denek Grupları

Araştırmada kullanılan laboratuvar hayvanlarının temin edilmesi ve bakımı Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deneysel Araştırmalar Birimi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 37 adet 7 günlük Sprague Dawley sıçanlar 3 gruba ayrılmıştır. Sıçanlar, her kafeste 13 adet kontrol grubu, 12 adet travma grubu ve 12 adet travma+ MK-801 grubu hayvan bulunacak şekilde 3 ayrı kafeste, 23±2°C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyot sağlanarak, standart pellet yemlerine ve suya serbestçe erişebilecekleri konumda barındırılmışlardır. Sıçanlar üzerinde uygulanan tüm deney paradigmaları, ulusal ve uluslararası hayvan deneyleri mevzuatına ve kılavuzlarına uygun olup; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (TF-HADYEK) tarafından 21.02.2018 tarih ve 32/2018 karar numarası ile onaylanmıştır.



Şekil 13. Araştırmada kullanılan 7 günlük yavru sıçanlar

Araştırmanın kontrol grubu 13 sıçandan oluşan ve herhangi bir işlem uygulanmayan, travma grubu 12 sıçandan oluşan ve yalnızca kafa travması uygulanan, araştırmanın üçüncü grubu ise 12 sıçandan oluşan, kafa travması uygulanan ve aynı zamanda MK-801 uygulanan travma+ MK-801 grubudur. Üçüncü grupta kafa travmasından hemen sonra serum fizyolojik içerisinde çözünen MK-801 (Sigma M107) 1 mg/kg tek doz ip uygulanmıştır (22).

5.1.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler ve Maddeler

Denek olarak kullanılan sıçanların yaşamları, hafif eter anestezisini takiben dekapitasyonla sonlandırılmıştır. Böylelikle kullanılan anesteziik yöntem literatürle uyumlu olacağından çalışmayı tartışmada kolaylık sağlanacağı düşünülmektedir.

5.2. YÖNTEM

5.2.1. Travmatik Beyin Zedelenmesi Modeli

Literatürde daha önce tanımlanan kontüzyon travma modeli, immatür primatlarda sıkça kullanılmaktadır (93; 8). Bu araştırmadaki modelde 40 cm uzunluğunda ve 1 cm aralıklarla delinerek oluşturulmuş kontüzyon aleti, eter anestezisi altındaki yavru sıçanın parietal kemiği üzerine dayanmış 2 mm çapında yuvarlak footplate üzerinde dik tutulmuştur. Beyin kontüzyonu için denegın ağırlığı kadar (10 gr) ağırlığın düşürülmesi amacıyla 160 gxcm bir kuvvet oluşturulmuştur. Sağ parietal kemiğe ağırlığın düşürülme koordinatları, sağda lambdanın 3 mm anterior x 2 mm lateralinde şeklinde ayarlanmıştır. Tüm yavru sıçanlar, travmadan 4 saat sonra annelerine geri dönene kadar bir ısıtma pedi üzerinde tutulmuştur.



Şekil 14. Kafa travması düzeneği

5.2.2. İntraperitoneal MK-801 Uygulanması

N-metil-D-aspartat tipi glutamat reseptörlerinin rekabetçi olmayan bir antagonisti olan MK-801, N-metil-D-aspartatın eksitotoksik etkilerini antagonize etme kabiliyeti açısından test edilmiştir (94). Araştırmada 3. grupta yer alan travma uygulanmış yavru sıçanlara MK-801 1 mg/kg tek doz intraperitoneal uygulanmıştır.



Şekil 15. Sıçanlara MK801'in intraperitoneal uygulanması

Başlangıçta 5 mg MK-801 (Sigma M107); 50 mL tuzlu suda çözülmüş ve 10 gram hayvan ağırlığına karşılık gelen 10 µg MK-801 için, 0.1 mL (100 µL) tuzlu su içeren çözelti hazırlanmıştır.

5.2.3. Deneysel Değerlendirmeler

5.2.3.1. Açık alan testi

Açık alan testi, ŐartlandırılmamıŐ korku ve anksiyeteyi değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Sıçanların aydınlık bir alana yerleŐtirildikleri koşullarda, hem yeni bir evre hem de ışık faktörleri sıçanlar için birer stres faktörü oluşturmaktadır. Artan anksiyete sonucunda lokomotor aktivitede azalma, merkezi alanlar yerine kenar alanlarda aktivitede artış gürülmektedir.



Şekil 16. Açık alan testi düzeneği

Açık alan testi iyi aydınlatılmıŐ bir alana yerleŐtirilen opak duvarlı olan ve zemini 16 eşit kareye bölünmüŐ 80 (geniŐlik) x 80 (uzunluk) x 50 cm (yükseklik) bir arena içerisinde yapılmıştır. Deney alanı üzerine 1,5 m yüksekliğe bir CCD kamera yerleŐtirilerek alan içerisine rastgele olarak yerleŐtirilen hayvanların davranışları 5 dakika süreyle kayıt edilmiştir. Her hayvan test alanından alındıktan sonra zemin alkollü bir bezle silinmiŐtir. Elde edilen kayıtlar, bağımsız bir gözlemci tarafından incelenmiş ve toplam hareket edilen kare sayısı, dış ve i karelerde geçirilen sürelerin toplam süre içerisindeki oranları hesaplanmıştır (95).

5.2.3.2. Morris su labirenti testi

Açık alan testi sonrasında Morris su labirenti testi kullanılarak spasyal öğrenme ve bellek değerlendirilmiştir. Havuzun bulunduğu odanın duvarlarına saat, tablo gibi iŐaretler yerleŐtirilerek, sıçanların bu iŐaretleri kullanarak yönlerini belirlemesi sağlanmıştır. Labirent merkezinden ortalama 2 metre yükseklikte sıçanların davranıŐlarını izlemek ve kaydetmek üzere bir video kamera sistemi bulunmaktadır.



Şekil 17. Sıçanların Morris su labirenti üzerinde durma ve yüzme davranışları

Testin yapıldığı her gün sıçanlar gizli platformun bulunmadığı rastgele seçilmiş 3 kadranın birinden, yüzleri havuz kenarına dönük olarak suya bırakılmış ve gizli platformu bulana kadar sıçanların yüzmelerine izin verilmiştir. Sıçanların maksimum yüzme süresi 60 saniye olarak sınırlandırılmıştır. Eğer 60 saniye içerisinde sıçanların platformu bulamamaları halinde, 15 saniye platformun üstünde kalmasına izin verilmiştir. Her sıçana günde 5 ardışık deneme uygulanmış, denemelerin aralıkları 60 saniye olarak belirlenmiştir. Her denemenin tamamlanmasından sonra sıçanlar platform üzerinden alınarak kurulanmış ve kafeslerine geri konulmuştur. Bu süreçte gerçekleştirilen işlemler ardışık 4 gün tekrarlanmıştır. Böylece her sıçan ile 4 gün toplam 20 deneme uygulanmıştır. 5. gün her sıçana bir hatırlama deneyi (probe trial) uygulanmıştır. Platform havuzdan kaldırılarak sıçanın 60 saniye yüzmesine izin verilmiştir. Hatırlama deneyi bitiminde davranışsal veriler; yüzme mesafesi, platformu bulma süresi ve her kadranda harcanan süre değerlendirilmiştir (96; 97).

Bu araştırmada Morris su labirenti testine travma+ MK-801 grubundan 11 sıçan alınmış, 1 sıçan ise test dışı bırakılmıştır (gelişim geriliği ve yüzememe, boğulma gibi motor becerilerde yetersizlikten dolayı).

5.2.3.3. Hipokampal Nöron Sayımı

Öğrenme-bellek deneylerinden sonra, eter anestezisinin ardından sakrifikasyon işlemi uygulanıp kafatası açılarak beyin bütün olarak çıkartılıp 150 ml heparinli serum fizyolojik (100 Ü/ 100 ml) ile perfüzyonun hemen ardından 300 ml formol ile fiksasyon işlemi yapılmıştır. Kafatası açılıp beyin bir bütün olarak çıkartıldıktan sonra %10'luk nötral formalinle fikse edilip rutin ışık mikroskopik doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan sistematik rastgele

örnekleme ile doku tükeninceye kadar 5 µm kalınlığında kesitler alınıp, Paxinos ve Watson'un atlasına göre yaklaşık hipokampusun CA1, CA3 ve dentat girus bölgesine karşılık gelen 21, 23 ve 25. kesitler seçilmiştir (98). Bütün kesitler cresyl violet boyası ile boyanmış, elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek volüm değişikliği açısından Cavalieri metodu ile değerlendirilmiştir. Hipokampusun CA1, CA3 ve gyrus dentatus bölgelerinin hacimleri hesaplanmış ve bu bölgelerde total hücre sayımı yapılmıştır. Hipokampusun CA1, CA3 ve dentat girus bölgeleri sağ ve sol hemisferleri olarak ayrı ayrı sayılmıştır.

5.2.3.4. İndirekt İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmunohistokimyasal inceleme için 60°C'lik etüvde 1 gece ve 3 değişim 20'şer dakika deparafinize edilen doku kesitleri, azalan alkol serilerinde rehidrate edildikten sonra 10 dakika distile su ile yıkanmıştır. Dokuya zarar vermeden kurulanıp dakopen (Dako, Glostrup, Denmark) ile çevreleri sınırlanmıştır. Diğer antikorlar için tripsin solüsyonu içinde 37°C etüvde 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazı inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük hidrojen peroksit uygulanmıştır. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler, 1 saat oda sıcaklığında bloklama solüsyonu ile enkübe edilmiş ve ardından yıkama yapılmadan NGF, BDNF, NMDA-R ve GFAP antikorları ile bir saat +4°C'de enkübe edilmiştir. Ardından fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dk inkübe edilmiştir. PBS solüsyonu ile yıkama yapıldıktan sonra enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) 30 dakika uygulanmış, reaksiyonun görünür hale getirilmesi için Diaminobenzidin (DAB) kullanılmıştır. Zemin boyaması Harris hematoksilen ile yapılmıştır. Dereceli alkollerde dehidratasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatılmıştır. Her sıçan grubundan 5'er adet sıçanın tüm beyinlerin çıkartılmış, sakrifikasyonda %10 formaldehit içerisinde oda sıcaklığında saklanarak immunohistokimyasal analize başlanmıştır.

5.2.3.5. NGF, BDNF ve NMDA-R düzeylerinin ELISA ile değerlendirilmesi

Sıçan doku örneklerinin hazırlanması ve protein ölçümleri: Doku homojenizasyonu için 100 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, %1 Triton X-100, %5 Sodyumdeoksikolat, proteaz inhibitör kokteyli karışımı ile hazırlanmış doku ekstraksiyon tamponu kullanılmıştır. Her bir dokunun 0.1 g ağırlığı için 1:10

olacak şekilde doku ekstraksiyon tamponu kullanılmıştır (w/v). Elde edilen homojenatlar 4000 rpm'de 15 dak. santrifüj edilmiş ve süpernatantlarda biçinkonik asit (BCA) protein ölçüm yöntemi ile protein ölçümü yapılmıştır (Kat No: Thermo, BCA Protein assay Kits, 23225 Rockford, USA). Süpernatantların bir kısmı biyokimyasal çalışmalar için -80°C'de analiz gününe kadar muhafaza edilmiştir.

Protein Ölçümü: Süpernatantlarda protein ölçümünde biçinkonik (BCA) protein ölçüm yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla Thermo marka (Kat No: BCA, Protein assay Kit, 2325) protein analiz kiti kullanılmıştır. Yöntemde, bakır sülfat BCA çözeltisine eklendiğinde elma yeşili renk oluşturmaktadır; bu çözelti protein çözeltisine ilave edildiğinde, proteinin peptid bağları ile etkileşerek, alkali koşullar altında iki değerlikli Cu^{2+} iyonları bir değerlikli Cu^+ iyonlarına indirgenerek mavi-mor renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Mavi rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile orantılıdır.

- Protein standartları olarak bidistile su içinde 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 ve 2000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında sığır serum albumini (BSA) standartları hazırlanmıştır.
- Standartlardan ve örneklerden 25'er μl 96 kuyucuklu plâğa konulmuştur.
- Çalışma çözeltisi; A reaktifi (biçinkonik asit solusyonu, sodyum karbonat, sodyum bikarbonat, biçinkonik asit ve sodyum tartarat) ve B reaktifinin (bakır sülfat solusyonu) 1:20 oranında karıştırılmasıyla hazırlandı. 200 μl çalışma çözeltisinden her kuyucuğa eklenmiştir.
- 37°C'de 30 dakika bekletilmiştir.
- Örnek absorbansları 562 nm'de okunmuştur.
- Protein konsantrasyonları standart grafiği kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar $\mu\text{g/mL}$ olarak ifade edilmiştir.

ELISA ölçümleri: Kontrol, Travma ve Travma+ MK-801 gruplarında beyin dokularında NGF (Katolog No: Sun Red 201-11-0540), NMDR (Katolog No: Sun Red 201-11-5837) ve BDNF (Katolog No: Sun Red 201-11-0477) düzeyleri enzim bağlı immunosorbent assay (ELISA) kiti ile kit prosedürüne uygun olarak değerlendirilmiştir. Absorbanslar Synergy HT, Multi-Detection Microplate Reader, BIO-TEK plate reader cihazı ile 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar, pg/mg

protein olarak verilmiştir. Analizlerde travma ve kontrol gruplarından 7'şer, travma+ MK-801 grubundan 6 sıçanın sağ ve sol hipokampusları çıkartılarak kullanılmıştır.

Şekil 18. Araştırmada kullanılan ELISA kiti

ELISA yöntemi: Süpernatantlarda NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerini ölçmek için kullanılacak kit içersindeki 96 kuyucuklu plakların iç yüzeyleri NGF, BDNF ve NMDA-R moleküllerine özgü monoklonal antikorlar ile kaplıdır. Travma, travma+ MK-801 ve kontrol gruplarının örnekleri ile NGF, BDNF ve NMDA-R içeriği bilinen standart örnekleri, spesifik NGF, BDNF ve NMDA-R antikorları ile birlikte bu kuyucukların içinde inkübe edilir. Antijen-antikor kompleksi oluşur. İnkübasyonun ardından bağlanamayan moleküller kuyucuklar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Örneklerde bağlı olan NGF, BDNF ve NMDA-R düzeylerini tespit etmek için kuyucuklara “horseradish” peroksidaz enzimi ile işaretli antikorlar (ikincil monoklonal antikorlar) eklenir. İnkübasyon süresi bitiminde bir yıkama işlemi ile serbest kalan konjugat ortamdan uzaklaştırılır. Peroksidaz ile reaksiyona giren tetrametil benzidin substratı kuyucuklara eklendiğinde enzimatik reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin bitiminde enzimatik reaksiyon durdurularak reaksiyon kuyucuklarında oluşan sarı renkli çözeltinin 450 nm’de absorbansı okunur. Renk yoğunluğu, örnekteki ikincil antikora bağlı NGF, BDNF ve NMDA-R miktarıyla doğrudan orantılıdır.

5.2.4. İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen veriler, SPSS (Statistical Package of Social Science) Software 15.0 programında değerlendirilmiştir. ELISA ile değerlendirme için gruplar arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi, grupların ikili karşılaştırmalarında Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. Veriler, grup ortalamaları \pm standart sapma olarak verilmiştir. $p < 0.05$ bulunması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Hipokampal nöron sayımı, immunohistokimyasal analiz ve davranış testleri için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Tek yönlü varyans analizi 3 ya da daha fazla grup ortalaması arasında istatistiksel farklılık olup olmadığını test etmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Grup ortalamalarının karşılaştırılması deneyin sonunda bağımlı değişkende meydana gelen değişkenliğin ne kadarının faktörden ne kadarının hatadan kaynaklandığının belirlemesi, bir başka deyişle toplam varyansın bileşenlerine ayrılması yardımıyla yapılmaktadır.

Tek yönlü Varyans analizi ANOVA'nın özel bir halidir ve tasarımlar içinde en basit olan analiz çeşididir. Etkisi araştırılmak istenen yalnız bir faktör olduğundan tek faktörlü ANOVA olarak da adlandırılmaktadır. Tek yönlü ANOVA, deney birimleri homojen olduğunda kullanılması önerilen en uygun tasarımdır. ANOVA'nın uygulanabilirliği için belirlenen varsayımlarının sağlanması gerekmektedir. Bu bahsedilen varsayımlardan bir tanesi Normallik varsayımdır. Normallik varsayımı, en önemli varsayımlardan biri olarak gösterilmektedir. Eğer normallik varsayımı sağlanmadığı takdirde parametrik bir test kabul edilmez ve ANOVA testi yerine parametrik olmayan alternatif testi Kruskal Wallis testi uygulanmalıdır. ANOVA testinin yokluk hipotezi "ortalamalar arasında anlamlı bir farklılık yoktur" şeklinde kullanılır ve test istatistiği olarak bilinen p değeri 0,05 anlamlılık düzeyinden büyük olduğunda yokluk hipotezi reddedilemez. Eğer $p < 0,05$ olduğundan ise yokluk hipotezi reddedilir ve ortalamalar arasında fark olduğu söylenebilir. Bu durumda deneme ortalamaları arasındaki farklılığın hangi deneme veya denemelerden kaynaklandığını belirlemek amacıyla bazı ikili ve çoklu karşılaştırma metotları bulunmaktadır. Bu çalışmada karşılaştırma metotlarından Bonferroni karşılaştırma metodu kullanılmıştır.

Bonferroni Metodu, sınırlı sayıda bağıntı karşılaştırılmak isteniyorsa kullanılması önerilmektedir (99).



6. BULGULAR

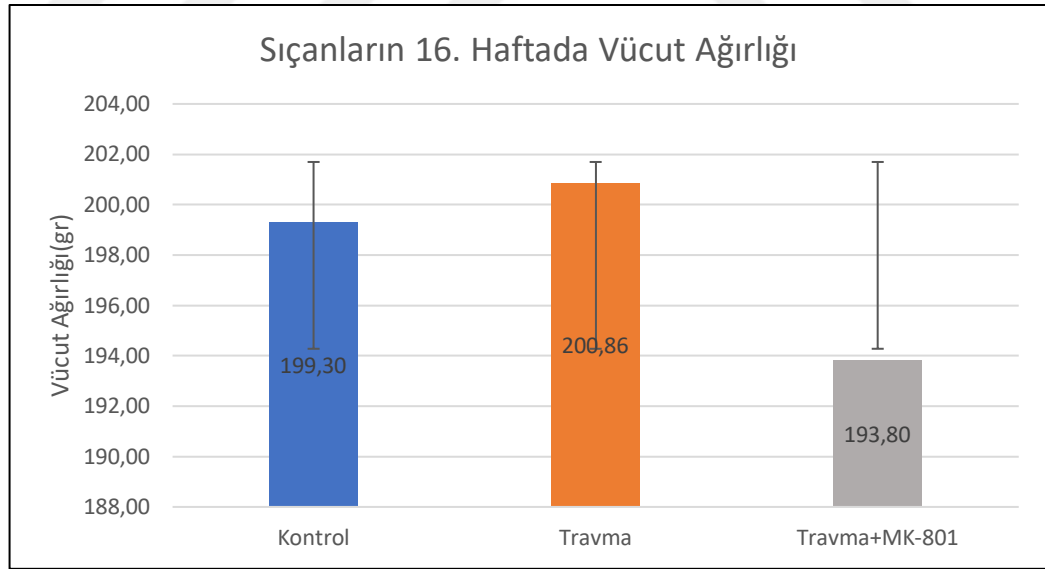
Araştırmadan elde edilen bulgular sırasıyla; vücut ağırlığı, hipokampal nöron sayımı, immunohistokimyasal analiz, ELISA, açık alan ve Morris su labirent testine ilişkin bulgular şeklinde sıralanmıştır.

6.1. Sıçanların Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Araştırmada kullanılan sıçan gruplarından; kontrol grubu, travma grubu ve travma+ MK-801 grubuna ilişkin 16 hafta boyunca, haftalık ölçülen vücut ağırlık ortalamaları Tablo 2’de ve Şekil 19’da yer almaktadır.

Tablo 2. Deney gruplarına ilişkin vücut ağırlığı istatistikleri

	N	X (Ort)	SS	Min.	Maks.	p
Kontrol	13	199,3016	11,90230	186,18	220,81	0,543
Travma	12	200,8605	19,26830	152,33	224,22	
Travma + MK 801	12	193,8014	19,61961	167,39	232,30	
Toplam	37	197,8832	17,19713	152,33	232,30	



Şekil 19. Vücut ağırlıklarının gruplara göre dağılımı

Tablo 2’ye göre kontrol grubunda yer alan sıçanların vücut ağırlıkları ortalama $199,30 \pm 11,90$ g, travma grubunda yer alan sıçanların vücut ağırlıkları ortalama $200,86 \pm 19,26$ g, travma+ MK+801 grubunda yer alan sıçanların vücut ağırlıkları ortalama $193,80 \pm 19,61$ g olarak belirlenmiştir. Bulgulara göre en yüksek ağırlık

ortalaması travma grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük ağırlık ortalaması travma+ MK-801 grubuna aittir. Ancak yapılan analiz sonucunda gruplar arasında vücut ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı görülmüştür ($p=0,543$).

6.2. Hipokampal Nöron Sayımına İlişkin Bulgular

Hipokampusun CA1, CA3 ve DG bölgelerindeki nöronlar sağ ve sol olarak ayrı ayrı sayılmış ve ortalaması alınmıştır. Sayım sonucunda elde edilen bulgular Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Deney gruplarına ilişkin histolojik değerlendirmede hipokampal nöron sayımlarının ortalaması

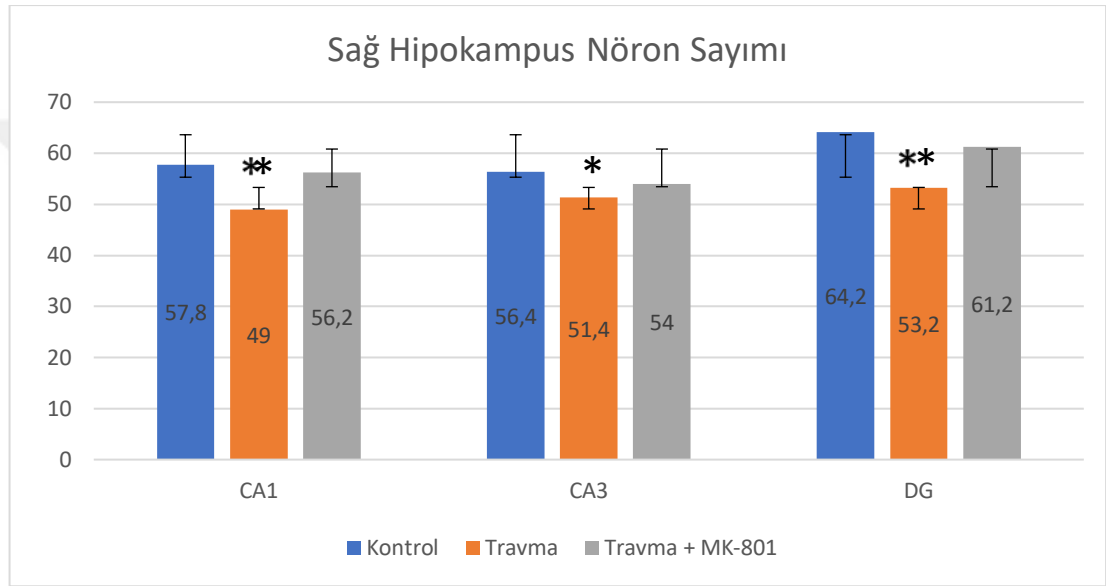
Hipokampal Nöron Sayımları		CA1	CA3	DG
Sağ Hipokampus Nöron Sayımı	Kontrol	57,80±3,27	56,40±2,41	64,20±3,42
	Travma	49,00±2,55	51,40±2,70	53,20±2,38
	Travma + MK-801	56,20±3,19	54,00±1,58	61,20±1,92
Sol Hipokampus Nöron Sayımı	Kontrol	58,80±1,92	56,40±2,07	62,20±3,49
	Travma	56,00±2,24	54,00±2,55	59,80±1,92
	Travma + MK-801	58,00±3,16	56,00±2,24	61,20±1,92

Tablo 3'e göre,

Kontrol grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin ortalama nöron sayımları 57,80±3,27, CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayımları 56,40±2,41 ve DG bölgesindeki ortalama nöron sayımları 64,20±3,42 olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin ortalama nöron sayımları 49±2,55, CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayımları 51,40±2,70 ve DG bölgesindeki ortalama nöron sayımları 53,20±2,38 olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sağ hipokampusun CA1 bölgesinin ortalama nöron sayımları 56,20±3,19, CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayımları 54±1,58 ve DG bölgesindeki ortalama nöron sayımları 61,20±1,92 olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin ortalama nöron sayımları 58,80±1,92, CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayımları 56,40±2,07 ve DG

bölgesindeki ortalama nöron sayımları $62,20 \pm 3,49$ olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin ortalama nöron sayımları $56 \pm 2,24$, CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayımları $54 \pm 2,55$ ve DG bölgesindeki ortalama nöron sayımları $59,80 \pm 1,92$ olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sol hipokampusun CA1 bölgesinin ortalama nöron sayımları $58 \pm 3,16$, CA3 bölgesindeki ortalama nöron sayımları $56 \pm 2,24$ ve DG bölgesindeki ortalama nöron sayımları $61,20 \pm 1,92$ olarak belirlenmiştir.



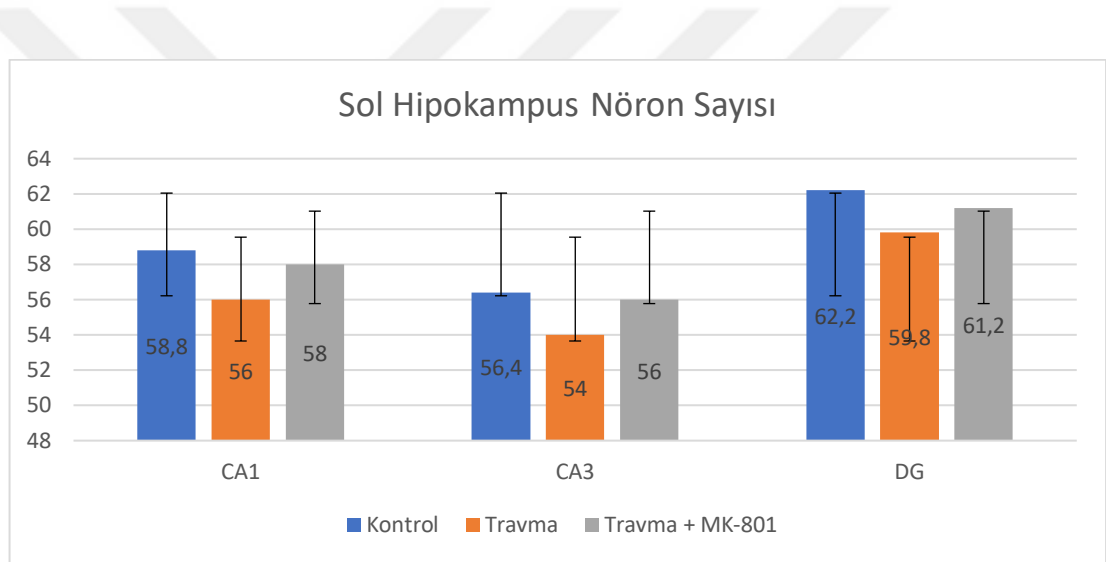
** $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

* $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

Şekil 20. Sağ Hipokampus Nöron sayımlarının gruplara göre dağılımı

Sağ hipokampusun CA1, CA3 ve DG bölgelerinin nöron sayımı bulgularına göre, sağ hipokampusun CA1 bölgesi nöron sayımı ortalaması en yüksek kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında sağ hipokampus CA1 bölgesi nöron sayımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p = 0,001 < 0,05$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. Sağ hipokampusun CA3 bölgesi nöron sayımı ortalaması en yüksek kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında sağ

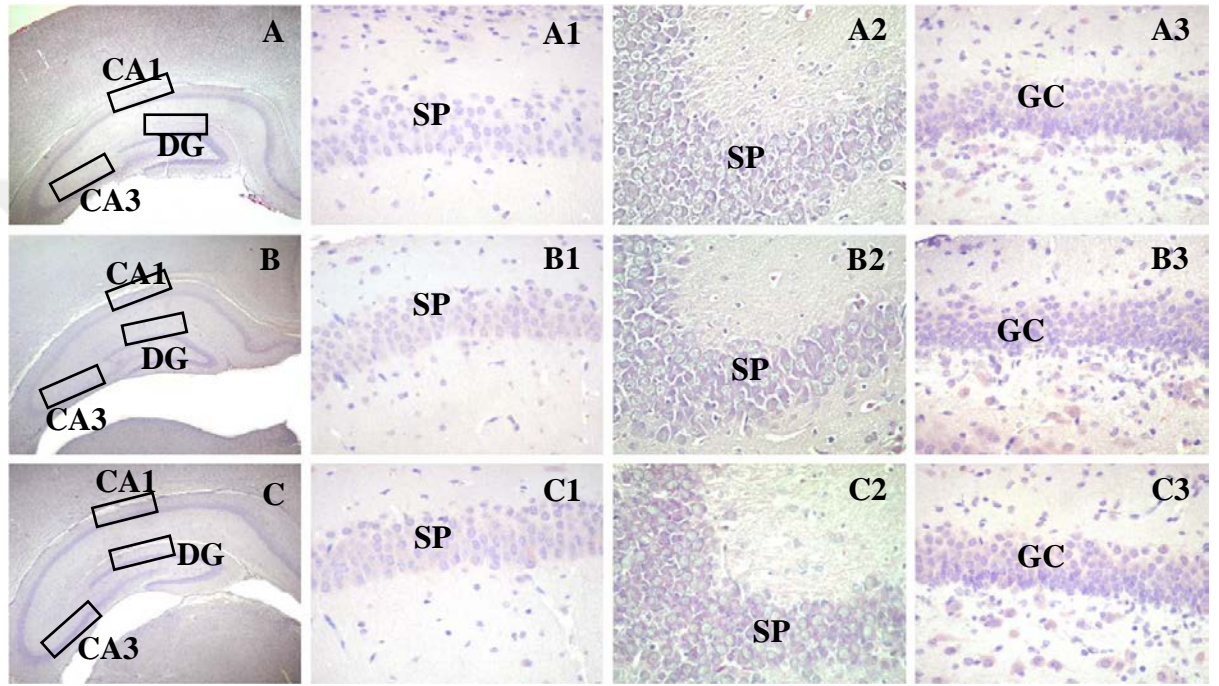
hipokampusun CA3 bölgesi nöron sayımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,016<0,05$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubu “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. Sağ hipokampusun DG bölgesi nöron sayısı ortalaması en yüksek kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında sağ hipokampusun DG bölgesi nöron sayımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000<0,05$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubu “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 21. Sol Hipokampus Nöron sayılarının gruplara göre dağılımı

Sol hipokampusun CA1, CA3 ve DG bölgelerinin nöron sayısı bulgularına göre, Sol hipokampusun CA1 bölgesi nöron sayısı ortalaması en yüksek kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında sol hipokampusun CA1 bölgesi nöron sayımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p=0,229>0,05$). Sol hipokampusun CA3 bölgesi nöron sayısı ortalaması en yüksek kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında sol hipokampusun CA3 bölgesi nöron sayımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p=0,248>0,05$). Sol hipokampusun DG bölgesi nöron sayısı ortalaması en yüksek

kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında sol hipokampus DG bölgesi nöron sayımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p=0,360>0,05$).



Şekil 22. Hipokampus bölgesinde Hematoksilen-Eosin boyama. Kontrol (A), Travma (B), Travma+ MK-801 (C). **DG**: Dentate Gyrus, **CA1**: Cornu Ammonis Area1, **CA3**: Cornu Ammonis Area3, **GCL**: Granule Cell Layer, **SP**: Stratum Pyramidale. DG Bölgesi (1), CA3 Bölgesi (2), CA1 Bölgesi (3). (A,B,C) x40, (1,2,3) x400

6.3. İndirekt İmmunohistokimyasal Analize İlişkin Bulgular

İmmunohistokimyasal analiz doğrultusunda sıçanların beyin dokusundaki BDNF, NGF, NMDA-R ve GFAP değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Hipokampus bölgesinde ölçümlenen immün boyama sonucunda Dentate Gyrus, Cornu Ammonis Area1, Cornu Ammonis Area3, Granule Cell Layer, Stratum Pyramidale bölgelerindeki reaksiyonlar incelenmiştir.

Tablo 4. Sağ Hipokampus Bölgesinde BDNF, NGF, NMDA-R ve GFAP Düzeylerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

	CA1	CA3	DG
Kontrol			
BDNF	285,8±7,05	275±7,42	303±14,63
NGF	267,6±12,82	263±10,49	295,6±7,40
NMDA-R	178,4±3,91	190,2±5,40	178,2±6,02
GFAP	99±5,70	88±5,24	102,6±2,97
Travma			
BDNF	104,4±7,13	101,2±4,60	103,2±8,70
NGF	96±6,32	97,4±5,77	96,8±6,22
NMDA-R	89,6±5,73	95,4±3,97	89,4±4,77
GFAP	107±5,83	94±3,16	103±2,24
Travma+ MK-801			
BDNF	227,4±8,96	241,2±12,52	263,2±6,10
NGF	228,4±13,46	227,4±13,39	234,2±14,77
NMDA-R	192,8±6,90	197,8±4,71	190±2,55
GFAP	117,6±4,16	102,6±4,16	103,2±3,96

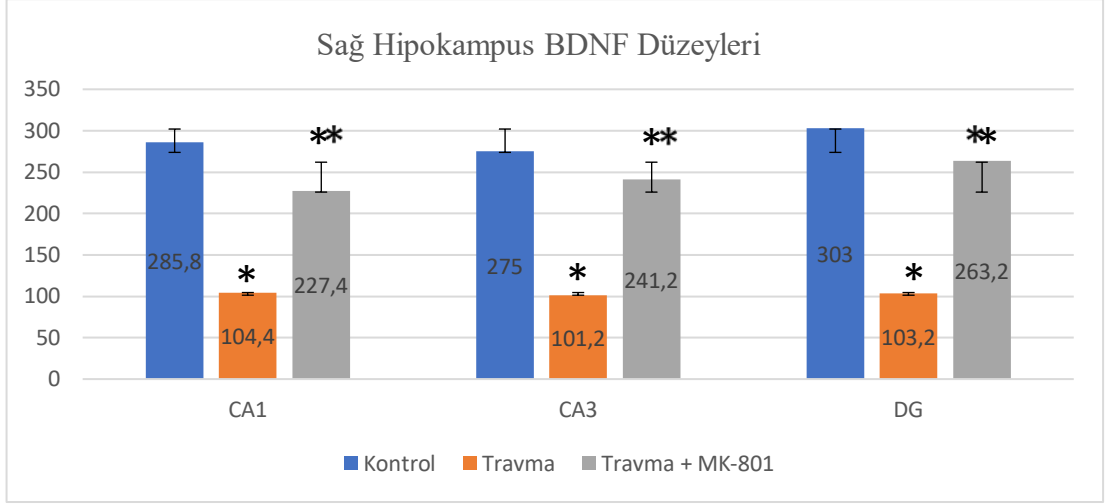
Tablo 4'e göre,

Kontrol grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin BDNF düzeylerinin ortalama değerleri 285,80±7,05, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 275 ±7,42 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 303±14,63 olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin BDNF düzeylerinin ortalama değerleri 104,4±7,13, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 101,2±4,60 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 103,20±8,70 olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sağ hipokampusun CA1 bölgesinin BDNF düzeylerinin ortalama değerleri 227,40±8,96, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 241,20±12,52 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 263,20±6,10 olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin NGF düzeylerinin ortalama değerleri $267,6\pm 12,82$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $263\pm 10,49$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $295,6\pm 7,40$ olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin NGF düzeylerinin ortalama değerleri $96\pm 6,32$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $97,4\pm 5,77$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $96,8\pm 6,22$ olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sağ hipokampusun CA1 bölgesinin NGF düzeylerinin ortalama değerleri $228,4\pm 13,46$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $227,4\pm 13,39$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $234,2\pm 14,77$ olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin NMDA-R düzeylerinin ortalama değerleri $178,4\pm 3,91$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $190,2\pm 5,40$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $178,2\pm 6,02$ olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin NMDA-R düzeylerinin ortalama değerleri $89,6\pm 5,73$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $95,4\pm 3,97$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $89,4\pm 4,77$ olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sağ hipokampusun CA1 bölgesinin NMDA-R düzeylerinin ortalama değerleri $192,8\pm 6,90$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $197,8\pm 4,71$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $190\pm 2,55$ olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin GFAP düzeylerinin ortalama değerleri $99\pm 5,70$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $88\pm 5,24$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $102,6\pm 2,97$ olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sağ hipokampusun CA1 bölgesinin GFAP düzeylerinin ortalama değerleri $107\pm 5,83$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $94\pm 3,16$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $103\pm 2,24$ olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sağ hipokampusun CA1 bölgesinin GFAP düzeylerinin ortalama değerleri $117,6\pm 4,16$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $102,6\pm 4,16$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $103,2\pm 3,96$ olarak belirlenmiştir.



** $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma+MK-801 grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük, travma grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksektir.

* $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

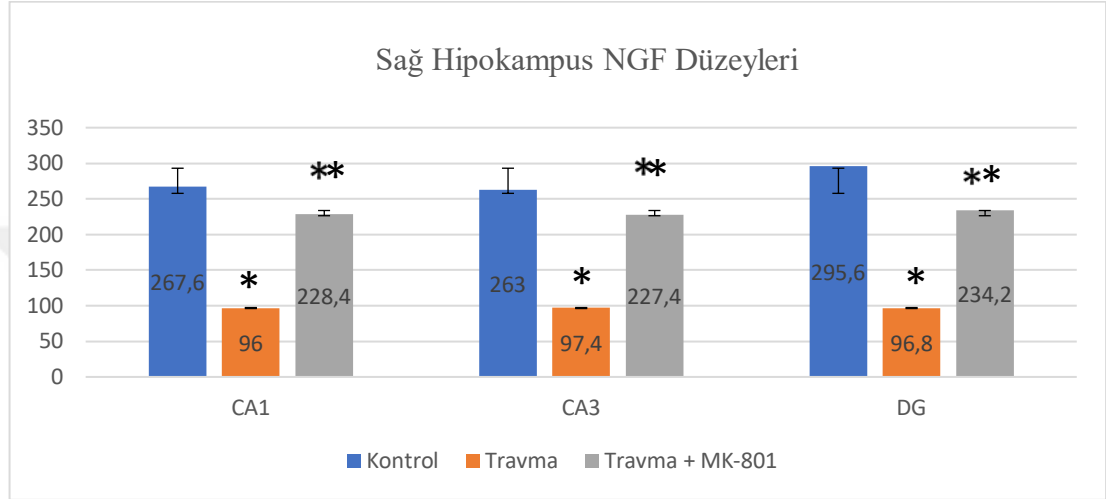
Şekil 23. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki BDNF Düzeyleri

Sağ Hipokampusun CA1 bölgesindeki BDNF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında BDNF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sağ Hipokampusun CA3 bölgesindeki BDNF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında BDNF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sağ Hipokampusun DG bölgesindeki BDNF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında BDNF immunohistokimya

boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.



* $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

** $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma+MK-801 grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

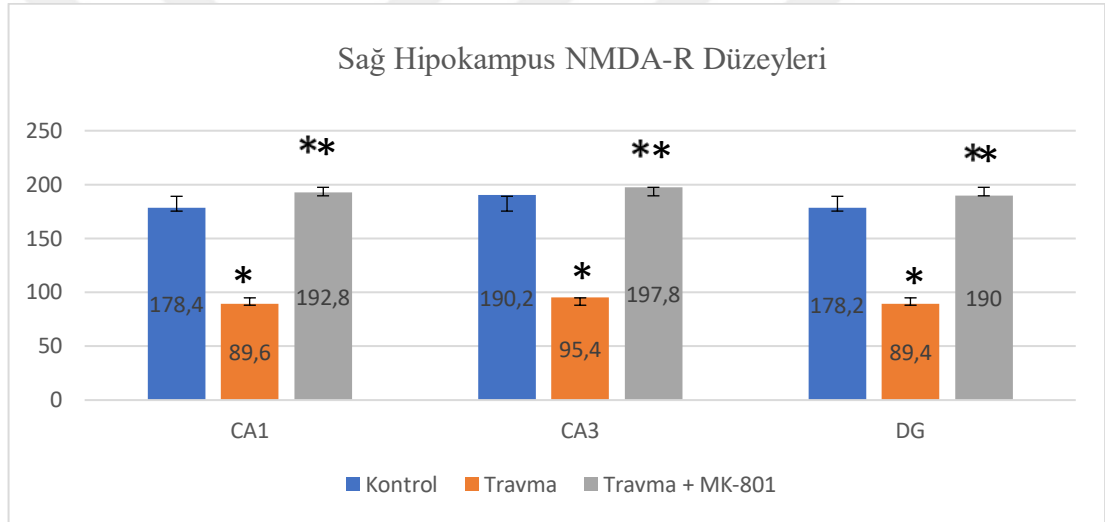
Şekil 24: Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NGF Düzeyleri

Sağ Hipokampusun CA1 bölgesindeki NGF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NGF boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ile “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sağ hipokampusun CA3 bölgesindeki NGF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NGF boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ile “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak

düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sağ hipokampusun DG bölgesindeki NGF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NGF boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun “kontrol” ile “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.



* $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

** $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma+MK-801 grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksektir.

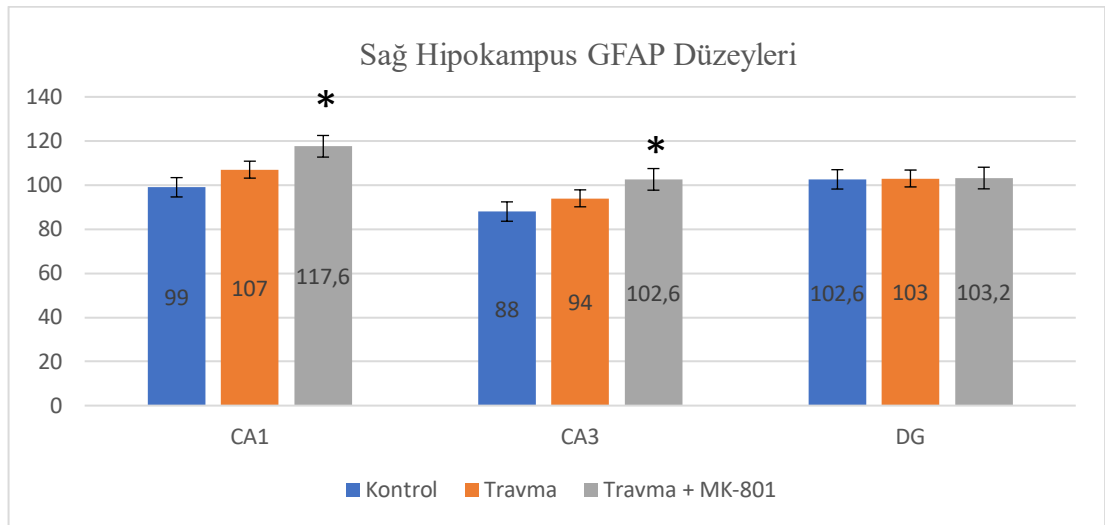
Şekil 25. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NMDA-R düzeyleri

Sağ hipokampusun CA1 bölgesindeki NMDA-R düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NMDA-R immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801”

grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sağ hipokampusun CA3 bölgesindeki NMDA-R düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NMDA-R immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sağ hipokampusun DG bölgesindeki NMDA-R düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NMDA-R immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu ve “travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.



* $p<0,05$ Travma+MK-801 grubu, kontrol ve travma gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksektir.

Şekil 26. Sağ Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki GFAP Düzeyleri

Sağ hipokampusun CA1 bölgesindeki GFAP düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında GFAP immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma+ MK-801” grubunun “kontrol” ve “travma” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sağ hipokampusun CA3 bölgesindeki GFAP düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında GFAP immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,001$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma+ MK-801” grubunun “kontrol” ve “travma” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sağ hipokampusun DG bölgesindeki GFAP düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında GFAP immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0,954>0,05$).

Tablo 5. Sol Hipokampus Bölgesindeki BDNF, NGF, NMDA-R ve GFAP Düzeylerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

	CA1	CA3	DG
	Kontrol		
BDNF	279,4±6,65	268,8±8,70	293,2±11,67
NGF	264,4±11,84	259,8±9,98	291,8±8,11
NMDA-R	177,4±2,07	187,8±5,26	175,4±5,46
GFAP	100,6±3,91	88,4±3,65	102,4±3,78
	Travma		
BDNF	260,2±6,42	260,2±4,60	264,4±6,46
NGF	212±2,24	207,4±8,41	213,4±5,18
NMDA-R	188,2±6,53	194,4±4,16	188±3,67
GFAP	101,4±3,65	92,8±5,81	106±1,58

	Travma+MK-801		
BDNF	288±6,86	276,4±8,56	306,8±15,80
NGF	244,8±10,06	249,8±12,15	254±16,28
NMDA-R	191,4±6,15	197,2±4,66	188,2±3,19
GFAP	106,4±3,21	99,4±2,07	104,6±2,70

Tablo 5'e göre,

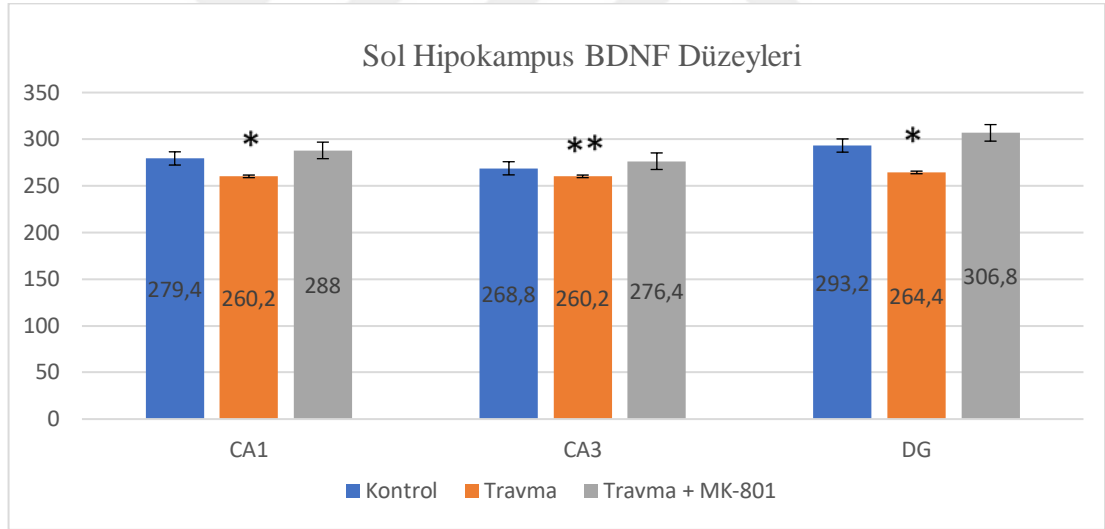
Kontrol grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin BDNF düzeylerinin ortalama değerleri 279,4±6,65, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 268,8 ±8,70 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 293,2±11,67 olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin BDNF düzeylerinin ortalama değerleri 260,2±6,42, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 260,2±4,60 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 264,4±6,46 olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sol hipokampusun CA1 bölgesinin BDNF düzeylerinin ortalama değerleri 288±6,86, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 276,4±8,56 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 306,8±15,80 olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin NGF düzeylerinin ortalama değerleri 264,4±11,84, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 259,8±9,98 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 291,8±8,11 olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin NGF düzeylerinin ortalama değerleri 212±2,24, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 207,4±8,41 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 213,4±5,18 olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sol hipokampusun CA1 bölgesinin NGF düzeylerinin ortalama değerleri 244,8±10,06, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 249,8±12,15 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 254±16,28 olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin NMDA-R düzeylerinin ortalama değerleri 177,4±2,07, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 187,8±5,26 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 175,4±5,46 olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin NMDA-R düzeylerinin ortalama değerleri 188,2±6,53, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri 194,4±4,16 ve DG bölgesindeki ortalama değerleri 188±3,67 olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801

grubunda ise sol hipokampusun CA1 bölgesinin NMDA-R düzeylerinin ortalama değerleri $191,4 \pm 6,15$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $197,2 \pm 4,66$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $188,2 \pm 3,19$ olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin GFAP düzeylerinin ortalama değerleri $100,6 \pm 3,91$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $88,4 \pm 3,65$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $102,4 \pm 3,78$ olarak belirlenmiştir. Travma grubunda sol hipokampusun CA1 bölgesinin GFAP düzeylerinin ortalama değerleri $101,4 \pm 3,65$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $92,8 \pm 5,81$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $106 \pm 1,58$ olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda ise sol hipokampusun CA1 bölgesinin GFAP düzeylerinin ortalama değerleri $106,4 \pm 3,21$, CA3 bölgesindeki ortalama değerleri $99,4 \pm 2,07$ ve DG bölgesindeki ortalama değerleri $104,6 \pm 2,70$ olarak belirlenmiştir.



* $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

** $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, travma+ MK-801 grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

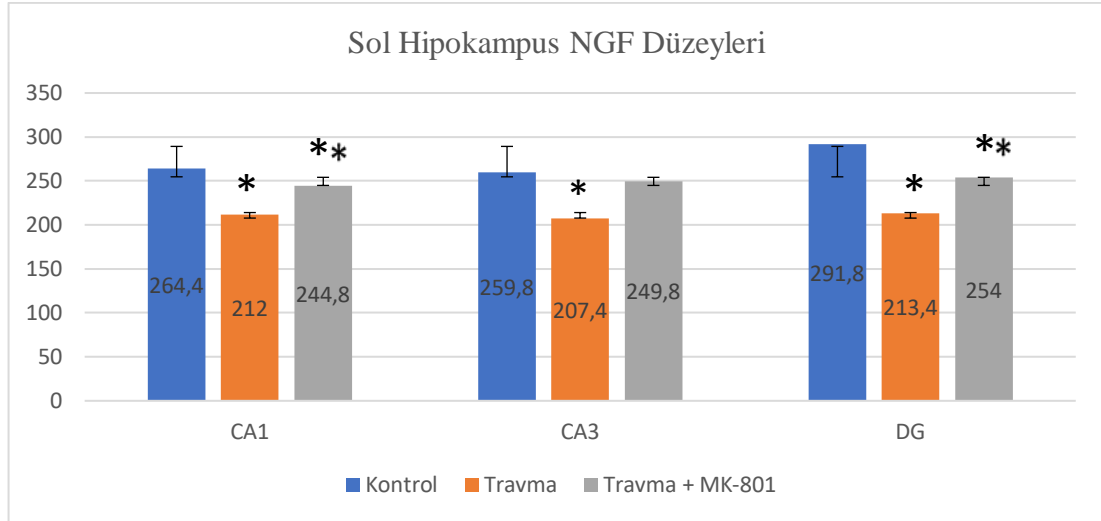
Şekil 27. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki BDNF Düzeyleri

Sol hipokampusun CA1 bölgesindeki BDNF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında BDNF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi

yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sol hipokampusun CA3 bölgesindeki BDNF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında BDNF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,017$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “travma+ MK-801” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sol hipokampusun DG bölgesindeki BDNF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında BDNF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.



* $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma grubu, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

** $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma+ MK-801 grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

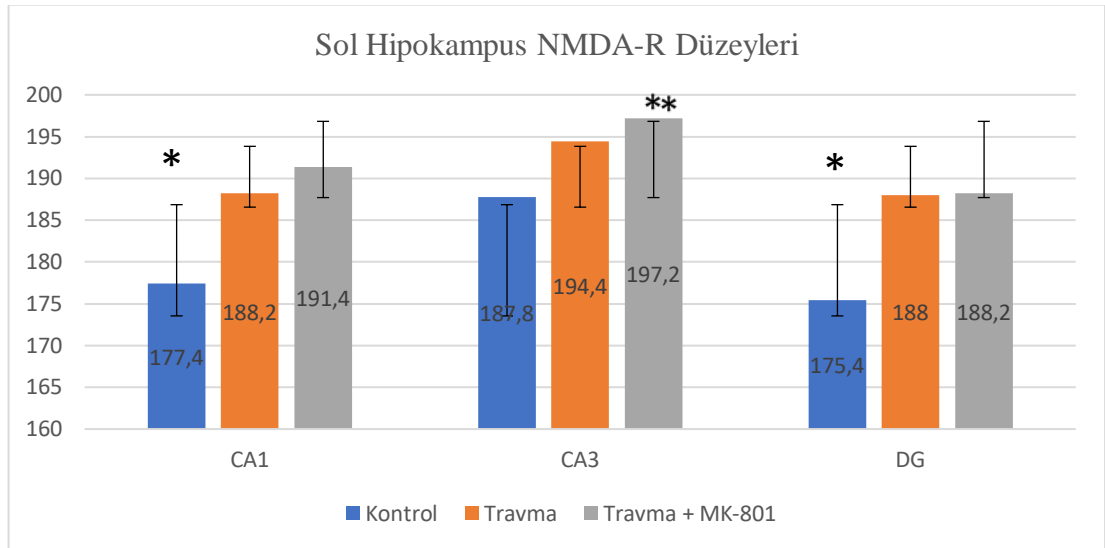
Şekil 28. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NGF Düzeyleri

Sol hipokampusun CA1 bölgesindeki NGF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NGF immunohistokimya

boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. “Travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sol hipokampusun CA3 bölgesindeki NGF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NGF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sol hipokampusun DG bölgesindeki NGF düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NGF immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,000$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma” grubunun, “kontrol” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. “Travma+ MK-801” grubunun ise “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.



* $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde kontrol grubu, travma ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktür.

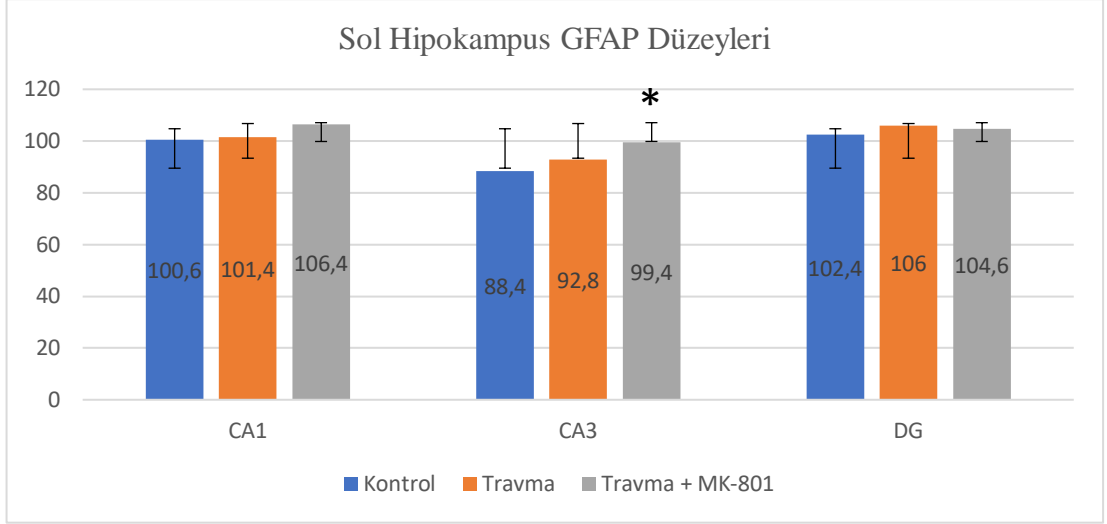
** $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde travma+ MK-801 grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksektir.

Şekil 29. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki NMDA-R Düzeyleri

Sol hipokampusun CA1 bölgesindeki NMDA-R düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NMDA-R immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,003$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “kontrol” grubunun, “travma” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.

Sol hipokampusun CA3 bölgesindeki NMDA-R düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NMDA-R immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,023$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma+ MK-801” grubunun, “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sol hipokampusun DG bölgesindeki NMDA-R düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında NMDA-R immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,001$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “kontrol” grubunun, “travma” ve “travma+ MK-801” gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir.



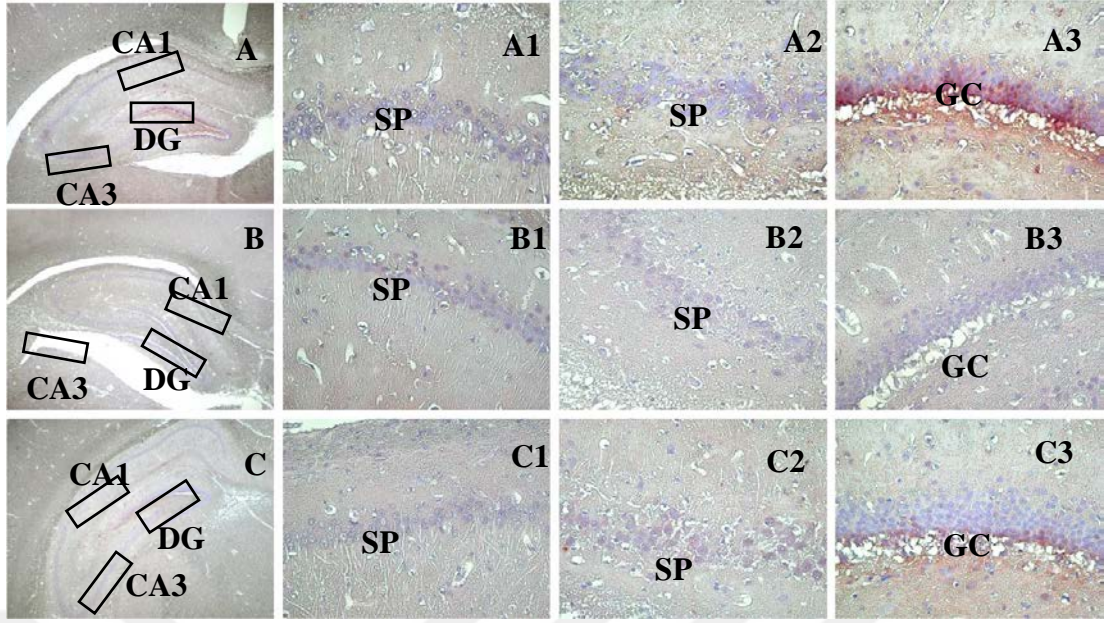
* $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde travma+ MK-801 grubu, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksektir.

Şekil 30. Sol Hipokampusun CA1, CA3 ve DG Bölgesindeki GFAP Düzeyleri

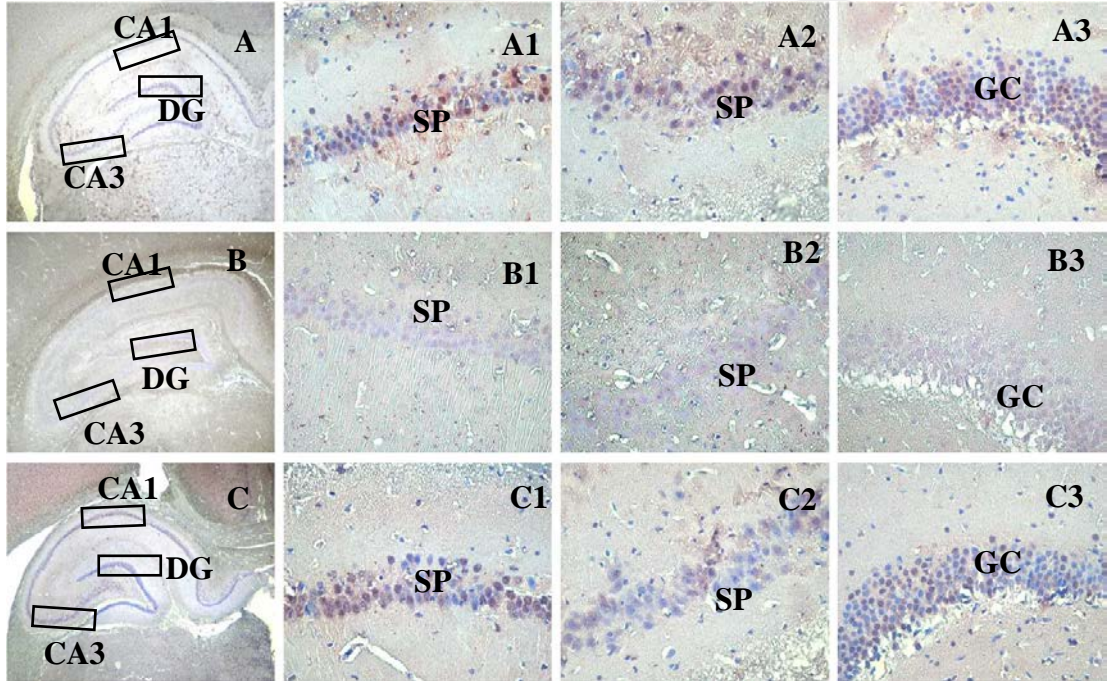
Sol hipokampusun CA1 bölgesindeki GFAP düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında GFAP immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. ($p=0,052 > 0,05$).

Sol hipokampusun CA3 bölgesindeki GFAP düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma+ MK-801 grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında GFAP immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,004$). Farklılığı tespit edebilmek için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre “travma+ MK-801” grubunun, “kontrol” grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

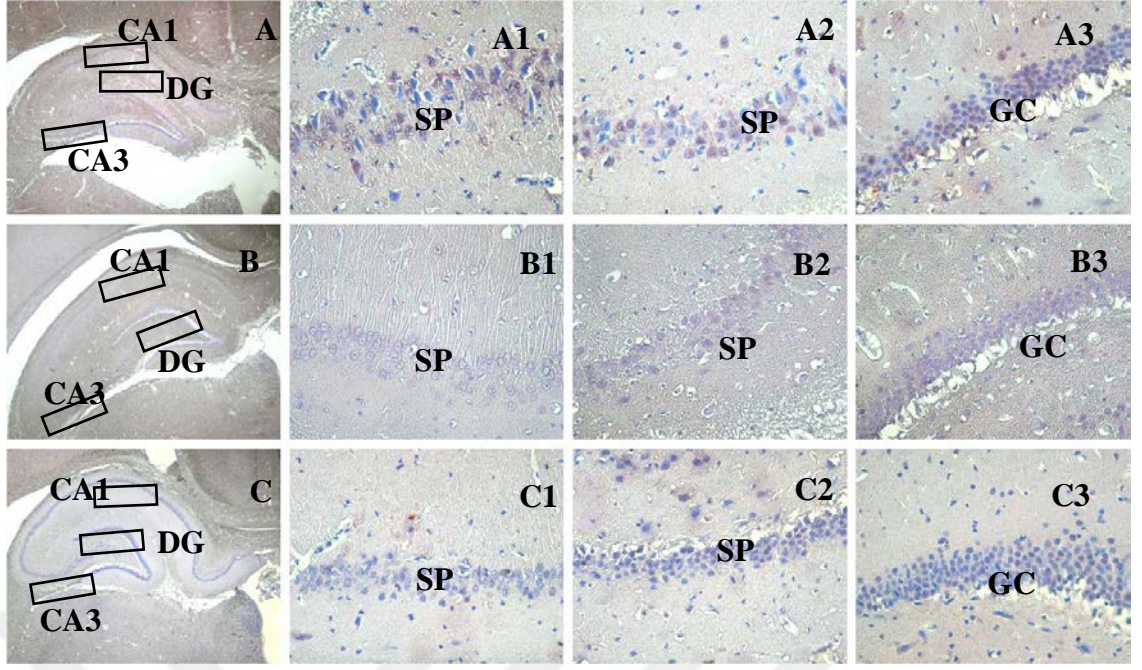
Sol hipokampusun DG bölgesindeki GFAP düzeyleri ortalaması açısından en yüksek değer travma grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük değer kontrol grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında GFAP immunohistokimya boyamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. ($p=0,171 > 0,05$).



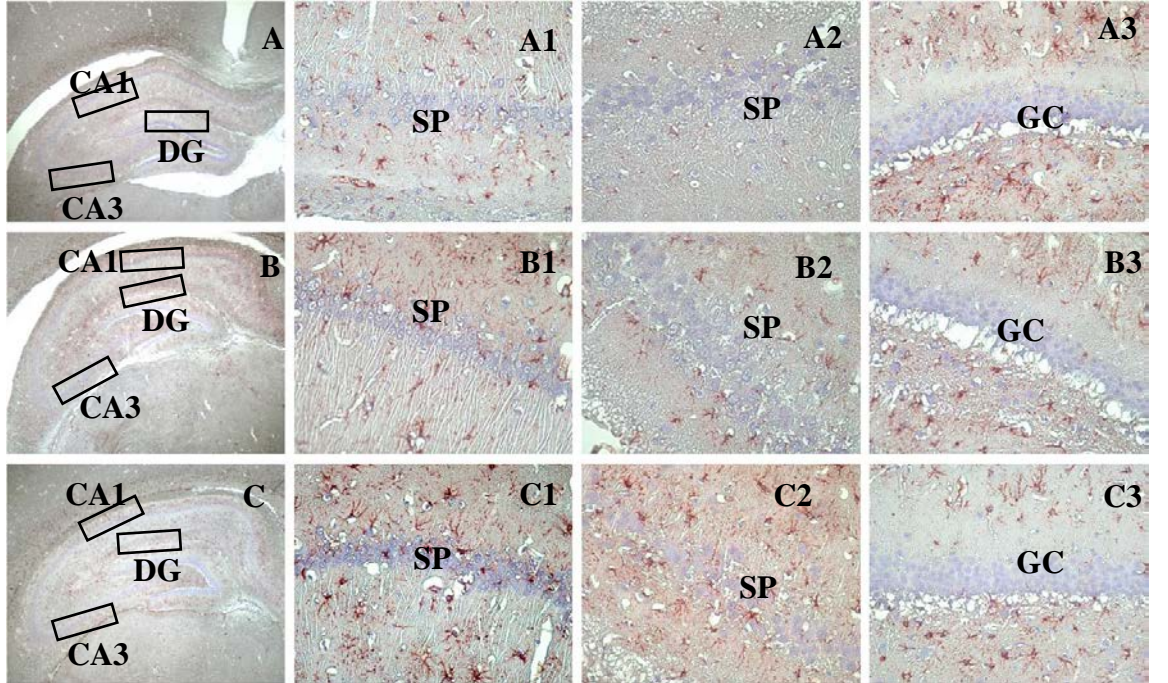
Şekil 31. Hipokampus bölgesinde BDNF immün boyama. Kontrol (A), Travma (B), Travma+ MK-801 (C). **DG**: Dentate Gyrus, **CA1**: Cornu Ammonis Area1, **CA3**: Cornu Ammonis Area3, **GCL**: Granule Cell Layer, **SP**: Stratum Pyramidale. DG Bölgesi (1), CA3 Bölgesi (2), CA1 Bölgesi (3). (A,B,C) x40, (1,2,3) x400



Şekil 32. Hipokampus bölgesinde NGF immün boyama. Kontrol (A), Travma (B), Travma+ MK-801 (C). **DG**: Dentate Gyrus, **CA1**: Cornu Ammonis Area1, **CA3**: Cornu Ammonis Area3, **GCL**: Granule Cell Layer, **SP**: Stratum Pyramidale. DG Bölgesi (1), CA3 Bölgesi (2), CA1 Bölgesi (3). (A,B,C) x40, (1,2,3) x400



Şekil 33. Hipokampus bölgesinde NMDA-R immün boyama. Kontrol (A), Travma (B), Travma+ MK-801 (C). **DG**: Dentate Gyrus, **CA1**: Cornu Ammonis Area1, **CA3**: Cornu Ammonis Area3, **GCL**: Granule Cell Layer, **SP**: Stratum Pyramidale. DG Bölgesi (1), CA3 Bölgesi (2), CA1 Bölgesi (3). (A,B,C) x40, (1,2,3) x400



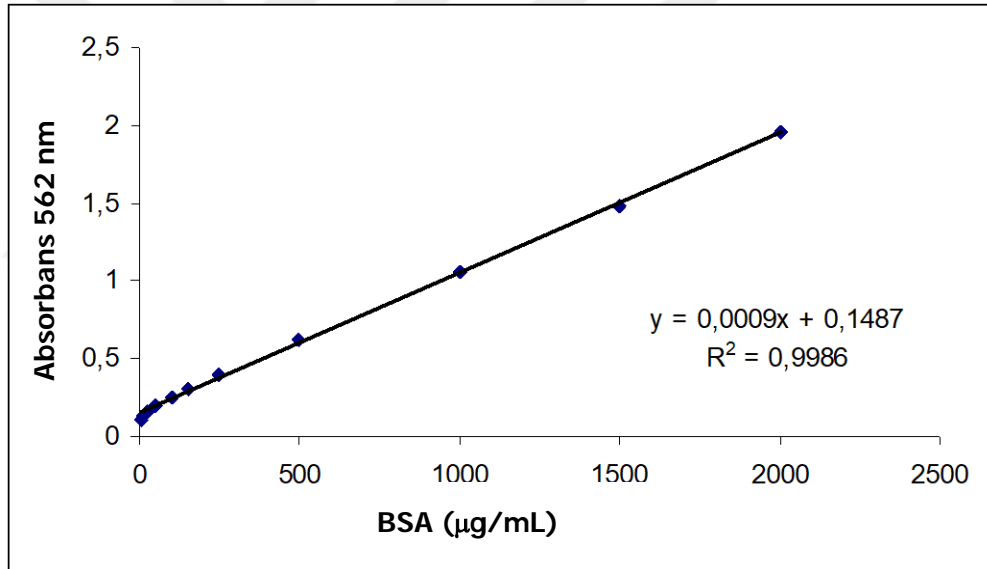
Şekil 34. Hipokampus bölgesinde GFAP immün boyama. Kontrol (A), Travma (B), Travma+ MK-801 (C). **DG**: Dentate Gyrus, **CA1**: Cornu Ammonis Area1, **CA3**: Cornu Ammonis Area3, **GCL**: Granule Cell Layer, **SP**: Stratum Pyramidale. DG Bölgesi (1), CA3 Bölgesi (2), CA1 Bölgesi (3). (A,B,C) x40, (1,2,3) x400

6.4. NGF, BDNF ve NMDA-R Düzeylerinin ELISA ile Değerlendirilmesine İlişkin Bulgular

Gerçekleştirilen ELISA testi ile sıçanların beyin dokusunda sırasıyla NGF, BDNF ve NMDA-R düzeyleri değerlendirilmiştir. Burada öncelikle dokulardaki protein düzeyleri her grup için hesaplanmış ve NGF, BDNF ve NMDA-R düzeyleri ile oranları incelenmiştir.

6.4.1. Dokuda Protein Konsantrasyonları

Şekil 35'te gösterilen standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak kontrol, travma ve travma+ MK-801 gruplarda dokuda protein düzeyleri hesaplanmıştır. Her koşul için ölçülen protein değerleri NGF, BDNF ve NMDA-R düzeyinin, saptanan protein düzeylerine oranlaması için kullanılmıştır. Grafikte belirtilen absorbans değeri, protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.



Şekil 35. Protein standart grafiği

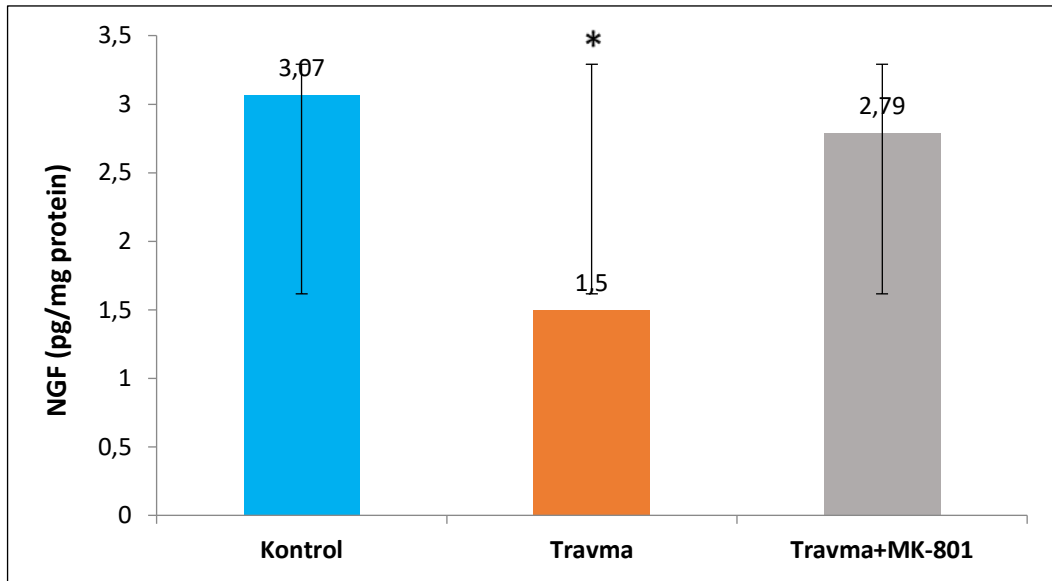
6.4.2. ELISA bulguları

Biyokimyasal bulgularımızda; sıçanlarda sağ hipokampus bölgesinde NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerinde travma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur (sırasıyla $p=0,026$, $p=0,017$ ve $p=0,001$). Travma+ MK-801 uygulanan grupta ise travma grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,035$, $p=0,030$ ve $p=0,001$) (Tablo 6). Sol hipokampus bölgesinde NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 6. Sağ hipokampus kontrol, travma ve travma+ MK-801 uygulanan gruplarda grup ortalamaları \pm SD ve p değerleri

	Kontrol (1)	Travma (2)	Travma+MK-801 (3)	p değeri (1-2)	P değeri (2-3)
NGF (pg/mg protein)	3.07 \pm 0.12	1.5 \pm 0.13	2,79 \pm 0.13	0.026	0.035
BDNF (pg/mg protein)	2.4 \pm 0.35	0.8 \pm 0.14	1.6 \pm 0.2	0.017	0.030
NMDA-R (pg/mg protein)	1.85 \pm 0.31	0.55 \pm 0.1	1.53 \pm 0.8	0.001	0.001

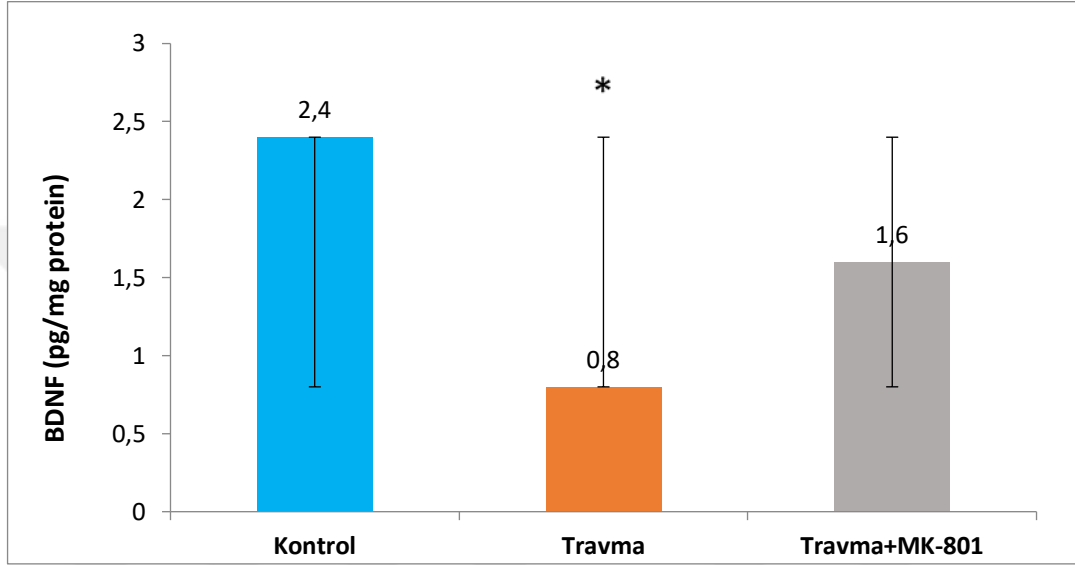
Tablo 6'ya göre biyokimyasal açıdan kontrol grubunda yer alan sıçanların NGF değerleri ortalama 3,07 \pm 0,12 pg/mg protein, travma grubunda yer alan sıçanların NGF değerleri ortalama 1,5 \pm 0,13 pg/mg protein, travma+ MK-801 grubunda yer alan sıçanların NGF değerleri ortalama 2,79 \pm 0,13 pg/mg protein olarak belirlenmiştir. BDNF değerleri ortalaması açısından kontrol grubu en yüksek (2.4 \pm 0.35 pg/mg protein), travma grubu en düşük (0.8 \pm 0.14 pg/mg protein) değerlere sahiptir. BDNF değerlerine benzer biçimde NMDA-R değerleri ortalaması açısından yine kontrol grubu en yüksek (1.85 \pm 0.31 pg/mg protein), travma grubu ise en düşük (0.55 \pm 0.1 pg/mg protein) değerlere sahiptir.



*p<0,05

Şekil 36. Sıçan gruplarına ait sağ hipokampal NGF protein düzeyleri. Bulgular pg/mg protein olarak ifade edilmiştir.

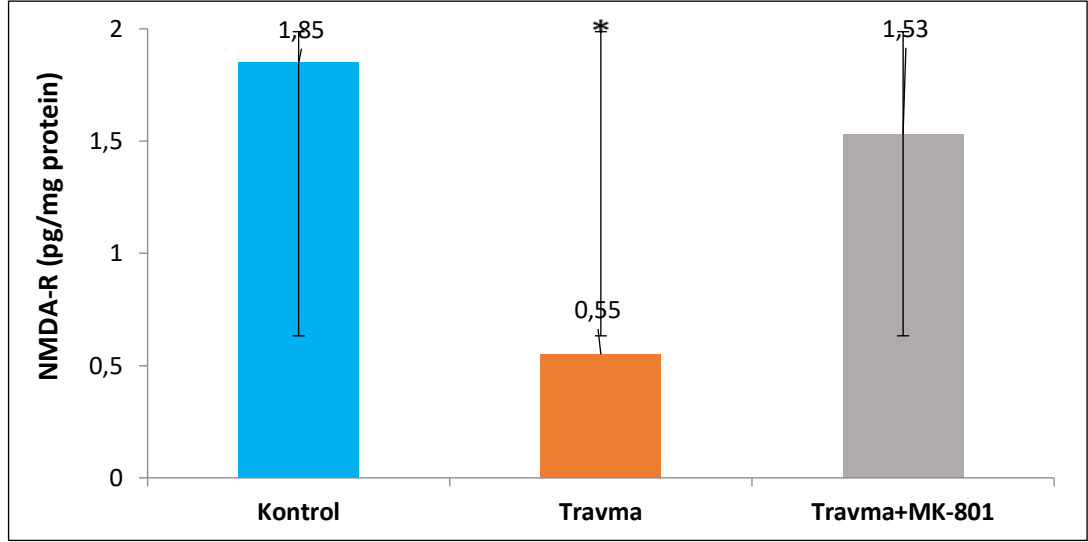
Şekil 36'daki bulgulara göre en yüksek NGF protein düzeyi ortalaması kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük NGF protein düzeyi ortalaması travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda, NGF protein düzeyinin travma grubunda hem kontrol hem de travma+ MK-801 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,026$ ve $p=0,035$).



* $p<0,05$

Şekil 37. Sıçan gruplarına ait sağ hipokampal BDNF protein düzeyleri. Bulgular pg/mg protein olarak ifade edilmiştir.

Şekil 37'deki bulgulara göre en yüksek BDNF protein düzeyi ortalaması kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük BDNF protein düzeyi ortalaması travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda, BDNF değerlerinin travma grubunda hem kontrol hem de travma+ MK-801 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,017$ ve $p=0,030$).



*p<0,05

Şekil 38. Sıçan gruplarına ait sağ hipokampal NMDA-R protein düzeyleri. Bulgular pg/ mg protein olarak ifade edilmiştir.

Şekil 38'deki bulgulara göre en yüksek NMDA-R protein düzeyi ortalaması kontrol grubundaki sıçanlara ait iken, en düşük NMDA-R protein düzeyi ortalaması travma grubundaki sıçanlara aittir. Yapılan analiz sonucunda, NMDA-R değerlerinin travma grubunda hem kontrol hem de travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,001$).

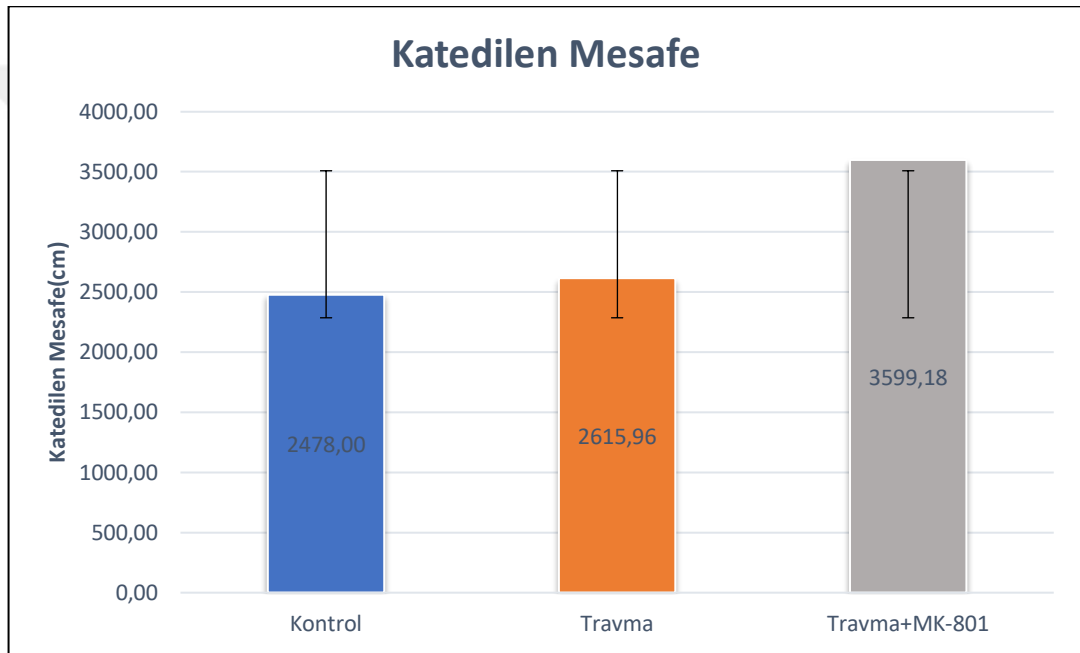
6.5. Açık Alan Testine İlişkin Bulgular

Açık alan korkusu ile tetiklenen anksiyete ve lokomotor aktivitelerin tespitinde kullanılan açık alan testinde zaman ölçütleri olarak; katedilen mesafe, hareket hızı, merkezde ve perifer alanda geçirilen süreler değerlendirilmiştir. Gruplara göre açık alan düzeneğindeki katedilen mesafe ve hareket hızlarına ilişkin bulgular Tablo 7'de gösterilmiştir.

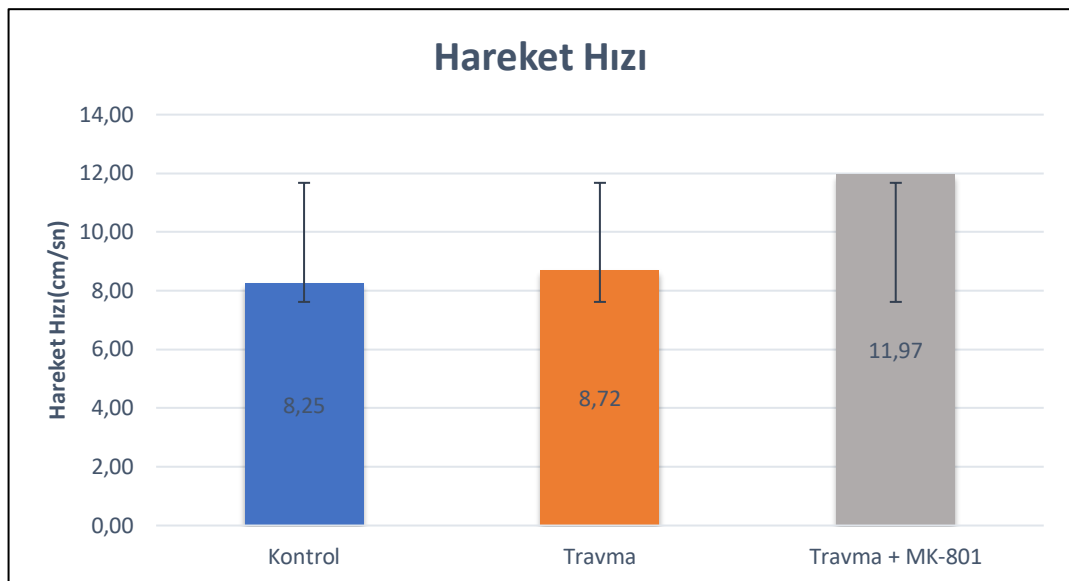
Tablo 7. Açık alan testine göre katedilen mesafeler ve hareket hızları

Gruplar	Katedilen Mesafe (cm) (Ort±SH)	Hareket Hızı (cm/sn.) (Ort±SH)
Kontrol	2478,00±104,23	8,25±0,35
Travma	2615,96±127,33	8,72±0,44
Travma+MK801	3599,18±594,90	11,97±2,06
p	0,617	0,616

Tablo 7'ye göre, kontrol grubunda yer alan sıçanların ortalama katettikleri mesafe $2478,00 \pm 104,23$ cm olarak bulunurken, hareket hızlarının $8,25 \pm 0,35$ cm/sn olduğu görülmüştür. Travma grubunda yer alan sıçanların ortalama katettikleri mesafe $2615,96 \pm 127,33$ cm iken, hareket hızları kontrol grubuna benzer şekilde $8,72 \pm 0,44$ cm/sn bulunmuştur. Travma+ MK-801 grubundaki sıçanların ise ortalama katettikleri mesafe $3599,18 \pm 594,90$ cm olmak üzere diğer gruplara göre daha fazla yol katettikleri, hareket hızlarının da daha yüksek ($11,97 \pm 2,06$ cm/sn) olduğu belirlenmiştir. Gruplar arasında katedilen mesafe ve hareket hızı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 39. Sıçan gruplarına ait katedilen mesafelerin gruplara göre dağılımı



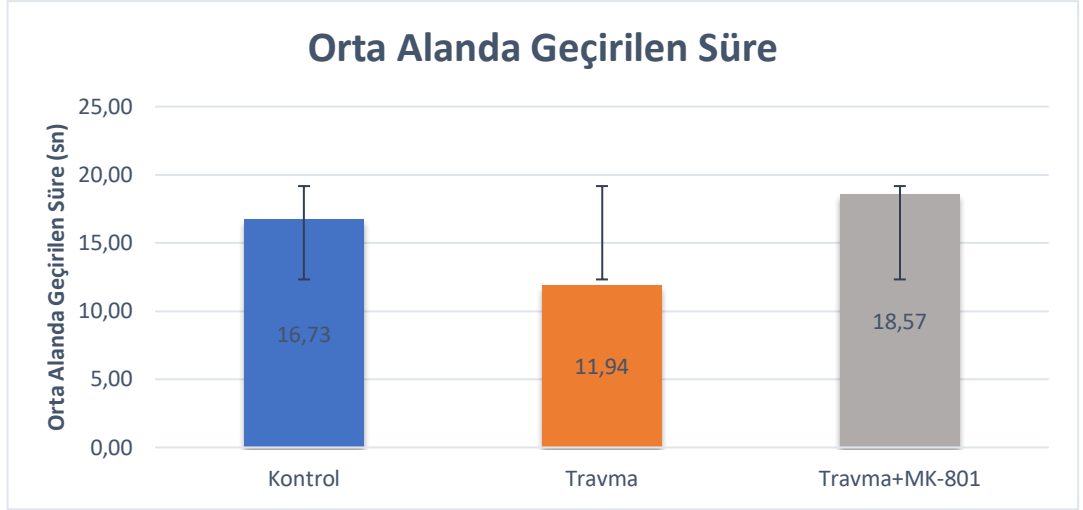
Şekil 40. Sıçan gruplarına ait hareket hızlarının gruplara göre dağılımı

Travma+ MK-801 uygulanan grupta katedilen mesafenin ve hareket hızının travma ve kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu, fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 8. Açık alan testine göre orta ve perifer alanlarda geçirilen süreler

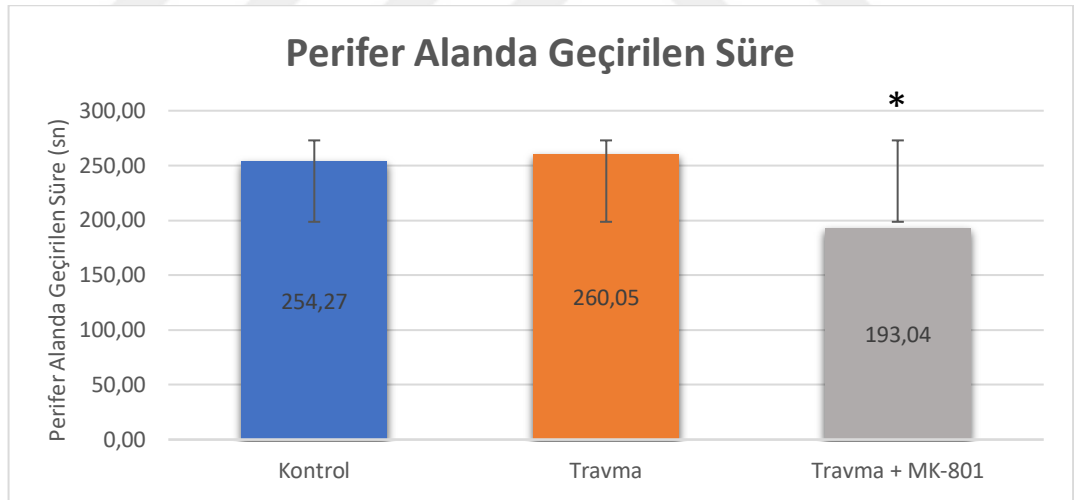
Gruplar	Orta Alanda Geçirilen Süre (sn) (Ort±SH)	Perifer Alanda Geçirilen Süre (sn) (Ort±SH)
Kontrol	16,73±2,99	254,27±7,51
Travma	11,94±2,91	260,05±6,65
Travma+ MK-801	18,57±4,20	193,04±15,71
p	0,391	0,012

Tablo 8'e göre kontrol grubunda yer alan sıçanların orta alanda geçirdikleri süre 16,73±2,99 sn. olarak bulunurken, perifer alanda geçirdikleri süre 254,27±7,51 sn olarak belirlenmiştir. Travma grubunda yer alan sıçanların orta alanda geçirdikleri süre 11,94±2,91 sn olarak bulunurken, perifer alanda geçirdikleri süre 260,05±6,65 sn olarak belirlenmiştir. Travma+ MK-801 grubunda yer alan sıçanların orta alanda geçirdikleri süre 18,57±4,20 olarak bulunurken, perifer alanda geçirdikleri süre 193,04±15,71 sn olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında orta alanda geçirilen süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ($p>0,391$), perifer alanda geçirilen süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,012$).



Şekil 41. Sıçan gruplarına ait orta alanda geçirilen sürenin gruplara göre dağılımı

Şekil 41'e göre travma grubunun orta alanda daha az vakit geçirdiği, travma+ MK-801 grubunun ise orta alanda daha fazla vakit geçirdiği görülmüştür.



*p<0,05

Şekil 42. Sıçan gruplarına ait perifer alanda geçirilen sürenin gruplara göre dağılımı

Şekil 42'ye göre orta alanda geçirilen süre bulgularına uygun şekilde travma grubunun perifer alanda daha fazla vakit geçirdiği, travma+ MK-801 grubunun ise perifer alanda kontrol ve travma gruplarına göre istatistiksel olarak anlamı düzeyde daha az vakit geçirdiği görülmüştür.

6.6. Morris Su Labirenti Testine İlişkin Bulgular

Sıçanlarda hipokampal-bağımlı öğrenme ve belleği test etmek amacıyla kullanılan Morris su labirenti bulguları, her üç gruba ilişkin platform bulma süreleri, yüzme hızları, hedef kadran ve opozit kadranlarda geçirilen sürelerin 4 günlük veriler ve belleğe ilişkin 5. gün verileri sırasıyla verilmiştir. Gruplara göre ortalama platform bulma süreleri Tablo 9’da gösterilmiştir.

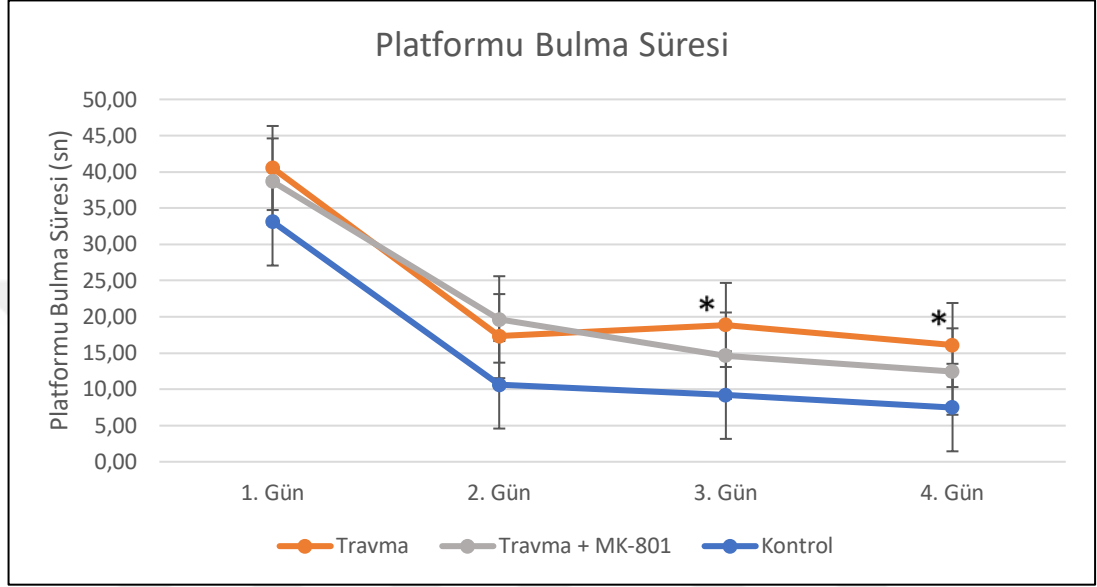
Tablo 9. Morris su labirenti testine göre 1. , 2. , 3. ve 4. günlerdeki platform bulma süreleri

Gruplar	Platformu Bulma Süresi (sn) (Ort±SH)			
	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün
Kontrol	33,11±8,64	10,62±2,39	9,19±2,34	7,48±1,35
Travma	40,53±5,89	17,33±1,91	18,88±2,22*	16,11±2,19*
Travma + MK-801	38,65±6,16	19,64±2,47	14,63±2,71	12,45±0,74
p	0,133	0,049	0,026	0,011

Tablo 9’da görüldüğü gibi, sıçanların platform bulma sürelerinin 4 farklı günde gruplar arasında karşılaştırması yapılmış, betimsel istatistiklerden ortalama ve standart sapma (\pm) bulunmuştur. Kontrol grubundaki sıçanların platform bulma süreleri 1. , 2. 3. ve 4. günler sırasıyla ortalama 33,11±8,64, 10,62±2,39, 9,19±2,34 ve 7,48±1,35 sn.’dir. Travma grubundaki sıçanların platform bulma süreleri sırasıyla ortalama 40,53±5,89, 17,33±1,91, 18,88±2,22 ve 16,11±2,19 sn. iken, travma+MK-801 grubundaki sıçanların platform bulma süreleri sırasıyla ortalama 38,65±6,16, 19,64±2,47, 14,63±2,71 ve 12,45±0,74 sn.’dir.

Yapılan analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiş ($p<0,05$), farkın hangi gruplar arasında olduğunu göstermek için karşılaştırma metotlarından Bonferroni metodu kullanılmıştır. Farklılığa neden olan grupların ikili karşılaştırmaları yapılmış, travma+ MK-801 ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Platform bulma süresinin üçüncü gününde travma grubu ile kontrol grubunun ortalamaları

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,023$). Benzer şekilde platform bulma süresinin dördüncü gününde de travma grubu ile kontrol grubuna ilişkin ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,009$). Testin üçüncü ve dördüncü gününde travma grubunun, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde platformu daha uzun sürede bulduğu belirlenmiştir.



* $p<0,05$

Şekil 43. Sıçan gruplarına ait platform bulma sürelerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 43'e göre platform bulma süresi 1. 3. ve 4. günlerde travma grubunda daha uzun sürmüştür. MK-801 ajanı uygulanan sıçanların platform bulma sürelerinin her gün gittikçe azaldığı görülmüş ve kontrol grubuna yakın bir değer aldığı belirlenmiştir.

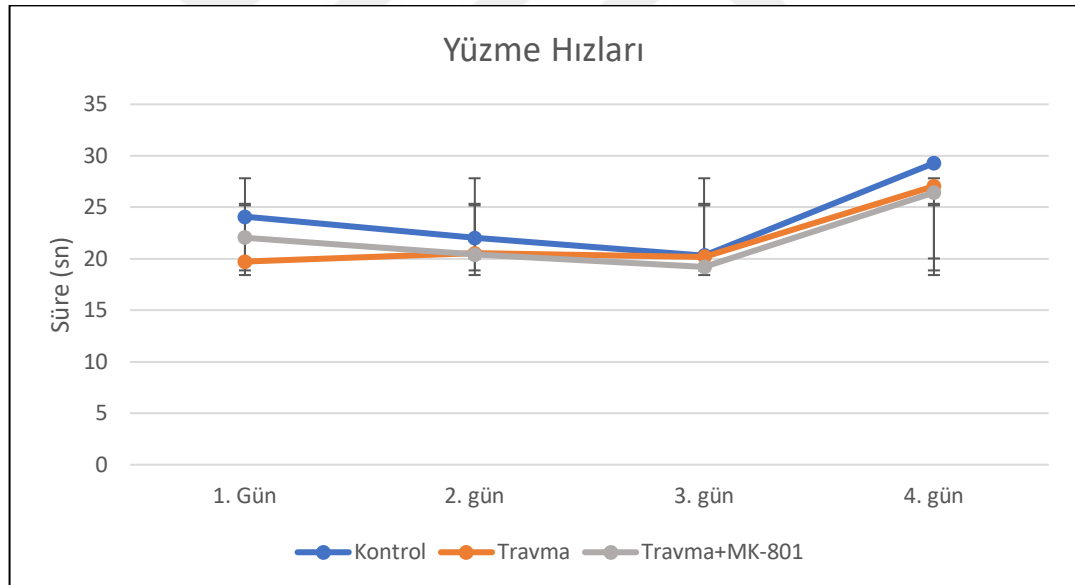
Gruplara göre sıçanların yüzme hızlarına ilişkin günlük verileri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Morris su labirenti testine göre 1. , 2. , 3. ve 4. günlerdeki yüzme hızları

Gruplar	Yüzme Hızları (sn) (Ort±SH)			
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün
Kontrol	23,87±1,16	21,00±0,69	20,30±1,38	29,29±1,45
Travma	19,54±0,91	21,07±1,24	20,20±1,05	27,05±0,50
Travma+MK-801	22,75±0,62	22,06±1,57	19,21±0,58	26,43±1,89
p	0,000	0,750	0,715	0,274

Tablo 10'a göre sıçanların yüzme hızları açısından 4 farklı günde gruplar arasında karşılaştırması yapılmıştır. Kontrol grubundaki sıçanların yüzme hızları 1. , 2. , 3. ve 4. günlerde sırasıyla ortalama $23,87 \pm 1,16$, $21,00 \pm 0,69$, $20,30 \pm 1,38$ ve $29,29 \pm 1,45$ sn.'dir. Travma grubundaki sıçanların yüzme hızları 1. , 2. , 3. ve 4. günlerde sırasıyla ortalama $19,54 \pm 0,91$, $21,07 \pm 1,24$, $20,20 \pm 1,05$ ve $27,05 \pm 0,50$ sn. iken, travma + MK-801 grubundaki sıçanların yüzme hızları 1. , 2. , 3. ve 4. günlerde sırasıyla ortalama $22,75 \pm 0,62$, $22,06 \pm 1,57$, $19,21 \pm 0,58$ ve $26,43 \pm 1,89$ sn.'dir.

Yapılan analizler sonucunda 1. güne ait yüzme hızları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Testin birinci gününde travma grubunun, kontrol ve travma+MK-801 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük yüzme hızına sahip olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 44. Sıçan gruplarına ait yüzme hızlarının gruplara göre dağılımı

Şekil 44'e göre 1. günde travma ve travma+ MK-801 grubunda kontrol grubuna göre daha düşük yüzme hızı gözlemlenirken, 4. gün sonunda travma+ MK-801 grubunun kontrol ve travma gruplarına göre daha yavaş yüzdüğü görülmüş fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$).

Tablo 11. Morris su labirenti testine göre hedef kadranda geçirilen süreler

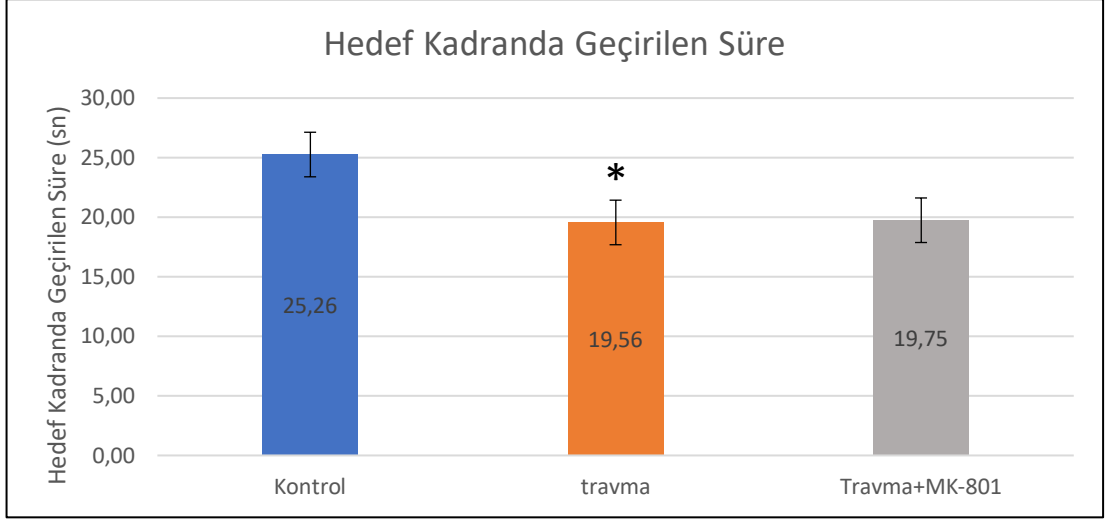
Gruplar	Hedef Kadranda Geçirilen Süre (sn) (Ort±SH)
Kontrol	25,26±1,26
Travma	19,56±1,28
Travma+ MK-801	19,75±2,11
p	0,018

Tablo 11'e göre kontrol grubunda bulunan sıçanların hedef kadranda geçirdikleri ortalama süre 25,26±1,26 sn, travma grubunda bulunan sıçanların hedef kadranda geçirdikleri ortalama süre 19,56±1,28 sn. ve travma+ MK-801 grubundaki sıçanların hedef kadranda geçirdikleri ortalama süre 19,75±2,11 sn.'dir. Hedef kadranda geçirilen süreler açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,018$).

Tablo 12. Morris su labirenti testine göre tüm kadrarlarda geçirilen süreler

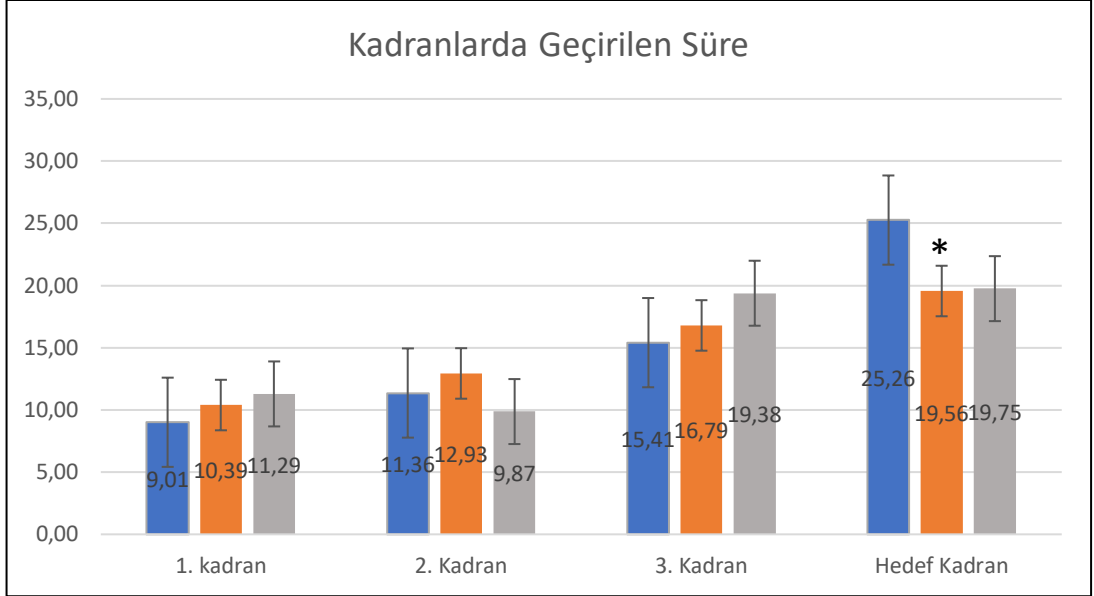
Gruplar	Kadrarlarda Geçirilen Süre (sn) (Ort±SH)			
	1. kadrant	2. Kadrant	3. Kadrant	Hedef Kadrant
Kontrol	10,39±0,94	12,93±1,84	16,79±1,31	25,26±1,26
Travma	11,29±1,88	9,87±1,30	19,38±1,25	19,56±1,28
Travma+MK-801	9,01±1,01	11,36±0,90	15,41±1,24	19,75±2,11

Tablo 12'ye göre kontrol grubunda yer alan sıçanların 1. , 2. , 3. ve hedef kadranda geçirdikleri süreler sırasıyla 10,39±0,94, 12,93±1,84, 16,79±1,31 ve 25,26±1,26 sn olarak bulunurken, travma grubunda bu değerler sırasıyla 11,29±1,88, 9,87±1,30, 19,38±1,25 ve 19,56±1,28 sn, travma+MK-801 grubunda ise 9,01±1,01, 11,36±0,90, 15,41±1,24 ve 19,75±2,11 sn olarak belirlenmiştir.



(*p<0.05)

Şekil 45. Sıçan gruplarına ait hedef kadranda geçirilen sürelerin gruplara göre dağılımı



(*p<0.05)

Şekil 46. Sıçan gruplarına ait tüm kadranlarda geçirilen sürelerin gruplara göre dağılımı

Şekil 46'ya göre hedef kadranda geçirilen süre açısından travma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ($p=0,018$). Travma grubunun kontrol grubuna göre hedef kadranda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha kısa zaman geçirdiği belirlenmiştir. 1. , 2. ve 3. kadranlarda ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

7. TARTIŞMA

Gelişmiş modern tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesine rağmen, kafa travmalarına bağlı ölümler günümüzde hala problem oluşturmaktadır (100). İnsan nüfusundaki artış ile birlikte trafik kazaları, iş kazaları, darp, düşme gibi mekanik travmalara bağlı gelişen kafa travmaları sonrası oluşmuş TBH öldürücü, sakat bırakıcı, uzun süre bakım ve tedavi gerektiren önemli kişisel ve sosyoekonomik sonuçları nedeniyle mutlaka çözülmesi gereken bir sorun olarak bilim dünyasının karşısında çözümlenmeyi beklemektedir (101, 102).

Epidemiyolojik ve etiyolojiye yönelik yapılan çalışmalarda, 45 yaş altı genç popülasyonda önde gelen ölüm nedenleri arasında trafik kazaları olduğu, genel travmaya bağlı ölümlerin ve sakatlıkların yarısının kafa travmaları nedeniyle geliştiği göz önünde bulundurulduğunda, bu durum iş kaybını ve tedavi masraflarını daha da arttırmaktadır (103, 104). Gelişmiş ülkeler ciddi sosyoekonomik problemler ile sonuçlanan bu sorunları aşabilmek için birincil korumayı desteklemek amaçlı ciddi çalışmalar yapmakla birlikte, TBH ile ortaya çıkan morbiditenin azaltılmasına yönelik yapılan bilimsel çalışmalara da destek vermektedir.

Travmatik beyin hasarını tamamıyla önleyebilecek ya da tedavi edilebilecek bir yöntem, yapılan tüm araştırmalara rağmen, hala mevcut değildir. Ancak sonuçlanan çalışmalar ve devam etmekte olan çalışmalar bu büyük problemin çözümünde insanlığa umut vaat etmektedir.

Mevcut sorunun çözümü, sorunun iyi analiz edilebilmesinden geçmektedir. Bu nedenle TBH'nin patofizyolojisini anlamaya yönelik, insana yakın deneysel modeller oluşturulmaya çalışılarak, birçok deneysel çalışma yapılmıştır. İnsandaki kafa travmasının primer ve sekonder sebeplerini araştırmak ve çeşitli tedavi yöntemlerini geliştirmek için kafa travması hayvan modelleri yapılmaktadır. Deneysel modellerin temel amacı nekrotik ve apoptotik nöronal hücre ölümünü ortaya koymaktır (105).

Bunların temel nedenleri; iyonik dengelerin bozulması, enflamatuar ve immunolojik cevap, ekstatör aminoasitlerin salınması, ortaya çıkan serbest radikaller, nörotransmitter ve nöromodulator sistemlerin bozulması sayılabilir (57).

Deneysel kafa travmaları, Denny-Brown Russell'in çalışmalarıyla akselerasyon konküzyon ve perküzyon-konküzyon olmak üzere iki kategoriye ayırmıştır (58). Çalışma için seçilen deneysel model, diğer modellere göre uygulanması kolay, ucuz, kontrol edilebilir bir model olan literatürde daha önce tanımlanmış konküzyon travma modelidir (93, 8).

Yapılan deneysel çalışmalar TBH sonrası oluşan patofizyolojinin iki süreçte gerçekleştiğini göstermiştir. Bu süreçlerden primer hasarlanma, kaza anında başlar ve daha sonra yerini günler, haftalar boyunca sürececek olan moleküler ve hücrel değişim kaskadını içeren ikincil hasarlanma tetikleyicisi olarak karşımıza çıkar (106). TBH'de birincil hasarlanmaya neden olan cerrahi endikasyonlu faktörlerin cerrahi işlemlerle ortadan kaldırılması, daha sonra gelişecek olan ikincil hasarlanma şiddetini en aza indirmek açısından önemlidir. Ancak ikincil hasarlanma sürecinde, travma sonrası hasarlanan ve canlılığını korumak için mücadele veren nöronların etkilenmesinin devam etmesi nedeniyle, bilimsel çalışmalar özellikle ikincil hasarlanma sürecine yoğunlaşmıştır.

TBH primer hasar incelendiğinde statik ve dinamik mekanik etki tipleri ile geliştiği gözlenmiştir (107). Bu mekanik etkiler sonrası skalpte değişik derecelerde yaralanmalardan yaygın aksonal hasara kadar varan kemik, vasküler ve serebral dokunun etkilendiği geniş yelpazede hasarlanmalar olduğu bilinmektedir (108, 109, 110). Sekonder hasar, birincil hasardan birkaç dakika sonra aylar içinde gelişerek sonuçta beyin hücresi ölümüne, doku hasarına ve atrofiye yol açan metabolik, hücrel ve moleküler olayların kaskadlarının sonucudur (34).

TBH patofizyolojisinde serebral hasarın ilk aşamaları, doğrudan doku hasarı, serebral kan akışı ve metabolizmanın bozulması ile karakterizedir. Bu “iskemi benzeri” model, anaerobik glikoliz, artan membran geçirgenliği ve ardışık ödem oluşumu nedeniyle laktik asit birikimine yol açmaktadır. Anaerobik metabolizmanın hücresel enerji durumunu muhafaza etmek amacıyla yetersiz kalması nedeniyle, ATP depoları tükenmekte ve enerji bağımlı membran iyon pompalarının başarısızlığı ortaya çıkmaktadır. Patofizyolojik kaskatın ikinci aşaması ise, eksitator nörotransmitterlerin (glutamat ve aspartat) aşırı salımı, NMDA-R, AMPA-R ve voltaj bağımlı Ca^{2+} - ve Na^{+} - kanallarının aktivasyonu ile birlikte terminal membran depolarizasyonu ile karakterize edilmektedir. Bu durum Ca^{2+} ve Na^{+} iyonlarının ardışık olarak hücre içerisine akışına neden olur. Tüm bu olaylar sonrası artan hücre içi sodyum miktarı ile sitotoksik ödem, hücresel asidoz ve lizis gelişir. Ca^{2+} konsantrasyonundaki artış ise, Ca^{2+} bağımlı enzimlerin (proteazlar, nükleazlar ve fosfolipazlar) aktivasyonu gibi hücresel apoptoza bağlı hücre içi sinyal yollarının aktivasyonunu sağlar (84).

Glutamat, beyinde en fazla bulunan eksitator nörotransmitterdir. Kafa travması sonrası artan hücre dışı glutamat seviyesi, nöronal hücre ölümüne yol açan ikincil hasarlanma ile sonuçlanabilecek glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılmasına neden olmaktadır. Bu tip olaylar, uzun süreli depolarizasyona ve sonraki iyonik dengesizliğe, ATP'nin tükenmesine ve beyin ödemi ile sonuçlanan intrasellüler serbest kalsiyum seviyelerinde artışa, kafa içi basıncın artmasına, vasküler kompresyona ve kafa travmasının ölümcül bir komplikasyonu olan beyin herniasyonuna neden olabilir. Bu nedenle, artan interstisyel glutamat seviyelerinin ve bunun sonuçlarına yol açan temel mekanizmaların anlaşılması önemlidir (49).

Elde edilen veriler ışığında kafa travması modellerinde eksitator aminoasit antagonistleriyle yapılan tedavi çalışmalarına da hız kazandırmıştır. Non-kompetitif EAA antagonisti MK-801 (dizocilpine) bugüne kadar sentezlenen veya keşfedilen NMDA reseptör blokörleri içerisinde en kuvvetli nöroprotektif ajandır. Başlangıçta antikonvülzan, anksiyolitik ve semptomimetik olarak kullanılan MK-801 günümüzde özellikle hipoksi/iskemi sonucu oluşan eksitotoksik hasarlara karşı nöroprotektif bir ajan olarak önerilmektedir (17, 33).

Bu çalışma sıçanlarda TBH sonrasında gelişen sekonder hasarlanmaki eksitotoksik hasarlara karşı NMDA-R antagonisti MK-801'in bilişsel davranış ve öğrenme-bellek üzerine ve travma sonrası immatür sıçanların hipokampal beyin bölgelerinde nörotrofik faktörlerin ekspresyonuna ileri dönem etkisini araştırmak için yapılmıştır.

Çalışmamızda 7 günlük 37 adet Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı ve 3 gruba ayrıldı. Araştırmanın kontrol grubu 13 sıçandan oluşan ve herhangi bir işlem uygulanmayan, travma grubu 12 sıçandan oluşan ve yalnızca kafa travması uygulanan, araştırmanın üçüncü grubu ise 12 sıçandan oluşan, kafa travması uygulanan ve aynı zamanda MK-801 uygulanan gruptur. Üçüncü grupta kafa travmasından hemen sonra serum fizyolojik içerisinde çözünen MK-801 (*Sigma M107*) 1 mg/kg tek doz ip uygulandı. Daha sonrasında üç grup yavru sıçanlara 16 hafta boyunca, haftalık vücut ağırlığı ölçümleri yapılarak kilo artışları gözlemlendi. Travmatik beyin hasarına maruz kalan sıçanlarda kilo açısından kontrol, travma ve travma+ MK-801 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken, MK-801 uygulanan grupta daha fazla kilo kaybı gözlemlenmiştir. Adelson ve ark. immatür sıçanlarda difüz travmatik beyin hasarı sonucunda, yaralanma sonrası 3 ay boyunca vücut ve beyin ağırlığı artışının gerçekleştiğini belirtmişler (111). Rowe ve ark. ise vücut ağırlığındaki değişikliklerin yaralanmaya bağlı metabolizmayı ve endokrin fonksiyon bozukluğunu temsil edebileceğini belirtmişler (112). Aynı çalışmada beyin hasarı sonrasındaki ilk 3 günde (yaralanmadan 0 ila 3 gün sonra), travma grubu plasebo grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığının önemli ölçüde azaldığı ve buna karşılık travma sonrası 3-58. günler arasında vücut ağırlığı tüm sıçanlarda arttığı görülmüş. Bununla birlikte travma grubundaki sıçanlar, plasebo grubu ile karşılaştırıldığında yüksek miktarda vücut ağırlığı kazanmışlar. Genel olarak, beyin hasarı vücut ağırlığında akut azalmaya neden olmuş, bu durum zamanla tersine dönerek travmaya maruz kalmayan sıçanların ağırlıkları travma grubundaki sıçanlardan daha düşük bulunmuş. İnsanlar üzerinde travmatik beyin hasarının kilo ile ilişkisi incelendiği bir çalışmada, travma sonrasında hastaların %42'sinin kilo aldığı, %28'inin ise kilo kaybettiği belirtilmiş, ancak travma ve kontrol grupları arasında kilo açısından istatistiksel olarak anlamlı bir

farklılık bulanamamış (113). Wright ve ark. kronik MK-801 (1 mg/kg doz) uygulanan sıçanlarda, vücut ağırlığının kontrol grubuna göre daha az olduğunu göstermişlerdir (114). Benzer bir diğer çalışmada ise 5 mg/kg tek doz ip MK-801 enjeksiyonunun uzun süreli bir gevşemeye (35-40 saat) neden olduğu ve dişi sıçanlarda ciddi bir vücut ağırlığı kaybına yol açtığı bildirilmiş (115). Bizim çalışmamızda da uyumlu olarak MK-801 uygulanan grupta daha fazla kilo kaybı gözlemlendi. Bu bulguların aksine Phillips ve ark. nın sıvı perküsyon kafa travmasını içeren bir hayvan modeli oluşturdukları çalışmalarında, travmadan on beş dakika önce sıçanlara MK-801 (0.3mg/kg) ip enjeksiyon uygulamışlar ve MK-801'in, ilaç uygulanmayan travma grubuna göre vücut ağırlığını önemli ölçüde arttırdığını göstermişler (116). MK-801'in vücut ağırlığı açısından metabolizmaya olan etkisi açık değildir ve yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Metabolik, endokrin ve hipotalamik fonksiyonlara etkisinin tam olarak aydınlatılması amacıyla ileri literatür çalışmalarına ihtiyaç vardır.

16. haftanın bitiminde davranış testlerinden açık alan testi ve ardından 5 günlük Morris su labirenti testi uygulandı. Deneyle bitiminde sıçanlar, morfolojik, histolojik ve biyokimyasal değerlendirme amacıyla sakrifiye edilerek beyin dokuları çıkarıldı. Çalışmamızda elde edilen bilateral hipokampal nöron sayımı bulgularına göre, travma grubunda yer alan sıçanların sağ hipokampusun CA1, CA3 ve DG bölgelerindeki nöron sayılarının kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını, aynı zamanda sol hipokampal alanlarda da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da nöron sayılarının azaldığını gösterdik. Travma+ MK-801 grubunda yer alan sıçanlarda ise yalnızca ipsilateral hipokampal alanlarda değil, aynı zamanda kontralateral hipokampal alanlarda da nöron sayılarının korunduğunu ve kontrol grubuna yakın düzeyde seyrettiğini saptadık. S. Bittigau ve ark, ağırlık düşürme modeliyle ilgili yaptıkları pediatrik kafa travması çalışmalarında, olgunlaşmamış sıçan beyinlerine uyguladıkları mekanik travmanın 4 saat içinde hızla genişleyen akut bir eksitotoksik lezyona neden olduğunu bildirmişler (93). Ayrıca bu lokal eksitotoksik cevabın birçok beyin bölgesini (örn, parietal ve cingulate korteksler, laterodorsal, mediodorsal ve ventral talamik nükleus, hipokampal dentat gyrus, subikulum gibi..) etkileyen yayılmış apoptotik hücre ölümü izlediğini belirtmişler. Aynı zamanda, kaspazlar olarak bilinen bir grup sistein proteazları vasıtasıyla hem nöronal hem de

nöronal olmayan hücrelerde glutamat eksitotoksitesinin apoptozu indüklediği gösterilmiştir (117). İpsi ve kontralateral hipokampal beyin alanlarını etkileyen yaygın nöronal hücre kaybının, eksitotoksite ve ilgili apoptoz nedeniyle olduğu ve önceki raporlarla tutarlı olduğu sonucuna vardık. Sönmez ve ark. yaptıkları pediatrik kafa travması çalışmalarında ise, travma grubunda nöron yoğunluğunun tüm hipokampal beyin alanlarında anlamlı düzeyde azaldığını, ancak travma+ MK-801 grubunda nöron yoğunluğunun korunduğunu tespit etmişlerdir (6). Shapiro ve ark. kafa travmasından 1 saat sonra verilen 3 mg/kg MK-801'in kortikal dokudaki azalmayı 24 saatte etkili bir şekilde önlediğini, travmadan 48 saat sonra ise farelerin nörolojik durumunu önemli ölçüde geliştirdiğini tespit etmişlerdir (118). Sonuç olarak MK-801'in kafa travması sonrası beyin ödemi oluşumunu ve apoptozu azalttığı, nörolojik iyileştirmeyi hızlandırdığını dolayısıyla MK-801 uygulamasının hipokampal alanlarda nöronal kaybı ve ilgili hafıza kaybını koruduğunu söyleyebiliriz.

Santral sinir sistemindeki en fazla glial hücre tipi olan astrositler, yaşam boyu nöroplastisite ve nöral homeostazda önemli bir rol oynar. Astrositler, hücre dışı glutamat, adenozin, potasyum, laktat ve GABA'yı diğer nörotransmitterler ve nöromodülatörler arasına taşıyarak nöronal uyarılabilirliği düzenler (119). Astrositler, travmanın da dahil olduğu beyin hastalığının bir çok yönünde kilit katılımcılar olarak ortaya çıkmaktadır. Astrositlerin aktivasyonu, metabolizmaya nörotransmitterlerin salınmasına, nöroplastisiteye ve nöron-glial sinyalleşmeye katılan moleküllerin ekspresyon seviyelerini değiştirmesine neden olur. Reaktif astrositler aynı zamanda BDNF ve NGF de dahil olduğu nörotrofik faktör üretirler (120). BDNF ve NGF başlangıçta nöronal sağkalım faktörleri olarak tanımlanan proteinler olan nörotrofin ailesinin bir üyesidir (121). Nöronların çoğalmasını ve farklılaşmasını desteklemenin yanı sıra, sinirsel bilgi işlem kapasitesinin kritik bir belirleyicisi olan dendritik dikenlerin şeklini ve sayısını da etkilerler (122, 123). Ayrıca, BDNF öğrenme ve belleğe bağlı hipokampal sinaptik plastisite formlarını düzenler ve BDNF sinyalleşmesinde yaşa bağlı düşüş, yaşa bağlı bellek eksikliklerine katkıda bulunabilir (123, 124). Astrositler aynı zamanda TrkB ve p75 BDNF nörotrofin reseptörlerini de eksprese eder (125). Wenjuan Yu ve ark. yaptıkları bir çalışmada MK-801, in vitro hipokampal astrositlerdeki BDNF, TrkB ve p75 ekspresyon seviyelerini anlamlı şekilde arttırdığını göstermişler (126). Çalışmamızdan elde edilen histolojik bulgulara

göre, travma bilateral hipokampusun CA1, CA3 ve DG alanlarında BDNF ve NGF ekspresyonlarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttı ve MK-801 uygulaması ise BDNF ve NGF ekspresyonlarındaki azalmayı tersine çevirerek arttırdı. Sönmez ve ark. benzer şekilde yapmış oldukları çalışmalarında, 1 mg/kg MK-801 dozuyla yapılan tedavinin, travmaya neden olan hipokampal nöron kaybını önemli ölçüde azalttığını ve CA1, CA3 ve DG hipokampal beyin bölgelerinde BDNF ve NGF ifadelerini artırdığını göstermiştir (6). Bu bulguların aksine, Fumagalli ve ark. MK-801'in BDNF nörotrofinin hipokampal ekspresyonunu azalttığını, bu etkinin antipsikotik ilaçlardan haloperidol ile daha da şiddetlendiğini, ancak olanzapin ile normalleştirildiğini göstermişlerdir (127). Linden ve ark. MK-801'in (5 mg/kg; 4 saat uygulama), entorinal kortekste BDNF mRNA'yı önemli ölçüde arttırdığını, ancak olfaktor bulbus dışında hiçbir beyin bölgesinde BDNF ekspresyonunu etkilemediğini tespit etmişlerdir (128). Cassol Jr. ve ark. sepsis modeli oluşturulan sıçanlarda, akut düşük MK-801 dozunun (0.025 mg / kg) BDNF seviyelerini değiştirmeden bellek açığını önlediğini bildirmiştir (129). BDNF ve NGF'nin deneysel TBH sonrasında sekonder hasarı hafifletme ve davranışsal sonucu etkileme yeteneği tartışmalıdır. V. Conte ark. yaptıkları bir çalışmada TBH'nin, TrkB reseptörünün ekspresyonunun azalmasına neden olabileceğinden ve BDNF'nin potansiyel nöroprotektif etkilere neden olmasını önleyebileceğinden hem BDNF'nin hem de TrkB reseptörünün hipokampal nöronal kayıp ve bilişsel işlev bozukluğuna katkısını değerlendirmişler. Deneysel TBH'yi takiben TrkB ve BDNF infüzyonunun farelerde nöronal sağkalımı ve davranışsal sonucu etkilemediği sonucuna varmışlar (130). TBH sonrası sekonder beyin hasarından korumak için BDNF ve NGF gibi nörotrofinlerin ekspresyonunu uyarmada MK-801 gibi ajanların kullanılmasının, ekzojen nöropeptidlerin kullanılması yerine daha iyi sonuçlara sahip olabileceğini düşünmekteyiz.

CNS'deki eksitatör nörotransmisyonun başlıca sorumlu reseptör olan NMDA-R, öğrenme ve hafızanın temelinde yatan sinaptik iletinin verimliliğindeki plastik değişikliklerde ve büyüme esnasında sinir ağının oluşmasında rol oynar. NMDA-R'ın aşırı aktivasyonları ise santral nöronların ölümüyle sonuçlanan glutamat nörotoksitesine neden olur. NMDA-R bölgesel dağılımı, TBH sonrasında beyinin özelleşmiş bölgelerindeki eksitotoksitesite ile doğrudan ilişkilidir (131). Kumar ve ark. kortikal etkili kafa travmasının ardından 6-12 saat süre sonra, hipokampal alanda

NMDA-R alt birimlerindeki protein seviyelerinde bir azalma olduğunu gösterdi (132). Giza ve ark. aynı zamanda sinaptik NR2 bileşiminde alt birime özgü bir azalma bildirmişler ve TBHyi takiben neokortekste geçici olarak meydana gelen bu azalma hipokampusta travmadan sonra en az 4 gün boyunca devam ettiğini belirtmişler (133). Biz de çalışmamızda önceki çalışmalar ile tutarlı olarak travmanın, sağ hipokampusun CA1, CA3 ve DG alanlarında NMDA-R ekspresyonlarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığını ancak sol hipokampusun aynı alanlarında NMDA-R ekspresyonlarını kontrol grubunun üzerinde seyrettirdiğini gözlemledik. Bu sol hipokampal NMDA-R ekspresyonlarının travma uygulanan taraf olan sağ hipokampal alandan daha fazla olması durumunu, nöral homeostazı sağlamak amacıyla gösterilen bir içsel savunma olarak açıklayabiliriz. MK-801 uygulamasının ise bilateral hipokampal CA1, CA3 ve DG alanlarında NMDA-R ekspresyonlarındaki azalmayı tersine çevirerek arttırdığını bulduk. Dolayısıyla bu bulgulara dayanarak, immatür sıçanlara TBH'yi takiben uygulanan MK-801'in geç dönemde de nöroprotektif etkisini devam ettirdiğini söyleyebiliriz.

Biyokimyasal bulgularımız histolojik bulgularımız ile tutarlı olarak, ELİSA yöntemi kullanarak yaptığımız çalışmada MK-801' in sıçanların sağ hipokampus beyin bölgesindeki BDNF, NGF ve NMDA-R protein düzeylerini travma grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığını gözlemledik (sırasıyla $p=0,035$, $p=0.030$ ve $p=0.001$). Zafra ve ark. hücre kültürüyle yaptıkları bir çalışmada, BDNF mRNA miktarının 7. güne kadar düzenli bir şekilde arttığını ve daha sonra orta seviyelere gerilediğini belirtmiş, MK-801'in BDNF mRNA'daki artışı devam ettirdiği ve ayrıca MK-801 NGF mRNA'yı da bir miktar artırdığını rapor etmişler (134). Bu durum, hipokampal nöronlarda bu iki nörotrofinin sentezinin glutamat sistemi tarafından düzenlendiğini göstermektedir.

Bir ara filament proteini olan glial fibriller asidik protein (GFAP), CNS'de astrosit hücrelerinde eksprese edilir ve astrosit aktivasyonunun bir işareti olarak kullanılır (124). Reaktif astrogliosis, CNS hasarına cevaben ve beraberinde nöropatolojik süreç olarak ortaya çıkar. Bu değişikliklere CNS hasarı bölgelerinde aktif astrositlerin bir işareti haline gelen GFAP seviyesindeki çarpıcı artışlar eşlik eder

(135). Çalışmamızdaki en belirgin bulgulardan biri, travmadan 4 ay sonra bile aktif mikroglia varlığını gösteren hipokampusun tüm alanlarındaki GFAP ekspresyonu artışıydı. Aktive edilmiş mikroglia travmaya yanıt olarak, yaralanma bölgesindeki hücresel kalıntıları fagositize etmede temizleyici olarak görev görür ve proinflatuar molekülleri salıverir. İlk basamak yaralanmaya tepki olarak faydalı olsa da, sitokinlerin ve serbest radikallerin salınımı TBH'nin ikincil aşamasında zararlı olabilir (136, 137). Daha önceki çalışmalar, mikrogliaların bazı tiplerinin nöroprotektif etki de gösterdiğini vurgulamışlar (138). Ancak yaralanmadan 4 ay sonra bile beyindeki varlığı kontrolsüz bir patolojik sürecin göstergesi olabilir. Yine bu durum, yaralanma onarımı tamamlandıktan uzun süre sonra hasarı arttırıyor olabilir. Diane M. Brooks ve ark. lateral sıvı perküsyon (LFP) tekniğini kullanarak yetişkin erkek Wistar sıçanlara dört hafta boyunca haftada bir kez hafif bir TBH'ye maruz bıraktıkları çalışmalarında, ipsilateral lateral periventriküler beyaz maddede, ipsilateral parietal kortekste ve ipsilateral iç kapsülde artan GFAP ekspresyonundan bahsetmişler (139). İnsanlarda travmatik beyin hasarının nörokimyasal karakterizasyonu inceleyen başka bir çalışmada da, yaralanan beyinler kontrol beyinlerine kıyasla artan sayıda GFAP- pozitif astrosit ve daha yoğun GFAP reaksiyonu gösterdiğini saptamışlar (140). Artmış ekspresyon, akut ve kronik beyin hasarına yanıt olarak bir reaktif morfolojik ve fizyolojik değişiklik kümesi olan astrosit aktivasyonunun bir işaretidir.

MK-801 (dizosilpin maleat) ve N-metil-D-aspartat reseptörünün diğer bazı antagonistleri, sıçanların posterior singulat / retrosplenial (PC / RS) korteksinde nöronların vakumlanmasına ve nekrozuna neden olur. Nöronal nekroz astrositik ve mikroglial bir reaksiyon başlatır. Bir çalışmada 60-70 günlük Sprague Dawley sıçanlarına 0.1, 1.0 veya 10 mg / kg dozlarda subkutan MK-801 ajanı verilmiş ve sıçanlar enjeksiyondan 3, 5, 9 veya 16 gün sonra öldürülerek posterior singulat ve retrosplenial kortekslerini içeren beyin örnekleri alınmış ve örnek homojenatları GFAP ekspresyonları açısından ELISA'ya tabi tutulmuş. PC ve RS kortekslerinde GFAP'ta anlamlı, doza bağlı bir artış meydana gelmiş (10 mg / kg MK-801 uygulanan grupta 9. günde en yüksek) ve GFAP'taki lokalize artış, immünohistokimya ile doğrulanmış. Bu biyokimyasal ve immünohistokimyasal veriler nöronal nekroza lokalize astrositik bir cevap gösterdiği sonucuna varmışlar (141). Hur ve ark. MK-

801'in hem dişi hem erkek sıçanlara ilişkin RS korteksteki GFAP ekspresyonunu, dişilerde daha büyük ölçüde arttırdığını belirlemişler (115). MK-801'in indüklediği GFAP ekspresyonu, dişilerde 17 β -estradiol (1 mg/kg) ile daha da artmıştır. Genel olarak, MK-801 ile tedavi edilen sıçanların RS korteksindeki GFAP ekspresyonunun, dişilerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine başka bir çalışmada rekabetçi olmayan NMDA antagonisti MK-801 (1 mg/kg) ile ön tedavi sonrasında akut bir omurilik yaralanması oluşturulan hayvan modelinde, MK-801'in nörofizyolojik sonucu iyileştirdiği ve GFAP ekspresyonunu arttırdığı bulunmuş (142). Wenjuan Yu ve ark. MK-801'in hipokampal astrositler üzerindeki etkisini araştırdıkları bir çalışmada, şizofreni hayvan modelinde hipokampal astrositlerdeki GFAP ekspresyon seviyelerini incelemişler. 8 adet erkek Sprague-Dawley sıçanlara 6 gün boyunca günlük MK-801 ip enjeksiyon (0,5 mg/0 ml/kg) uygulamışlar ve kontrol hayvanlarına (n = 8) eşit miktarda normal salin verilmiş. Bu çalışmada, tekrarlanan yüksek MK-801 dozları sıçan hipokampusünde GFAP ekspresyonlarını anlamlı şekilde arttırmış (126). Bizim çalışmamızda da hipokampal astrositler, önceki çalışmalarla uyumlu bir şekilde in vivo olarak MK-801 tarafından aktive edildi ve MK-801'in sağ hipokampusun CA1 ve CA3 alanlarında ve sol hipokampusun CA3 alanında GFAP ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığını gözlemledik. MK-801, hipokampusun diğer alanlarında da GFAP ekspresyonunu artırdı fakat anlamlı değildi. Bununla birlikte, Gomes ve ark. 1 mg/kg MK-801 ile 28 gün boyunca tedavi edilen farelerin dorsal hipokampusünde GFAP ekspresyonunda bir değişiklik olmadığını bildirmiş (143). MK-801'in hipokampal astrositler üzerindeki doğrudan etkilerini incelemek için primer astrosit kültürleri incelenmiş ve in vivo sonuçlarla tutarlı olarak MK-801'in hem protein hem de mRNA seviyelerinde GFAP ekspresyonunu arttırdığı görülmüş (144, 145). Sonuç olarak, MK-801'e astrositik tepki sıçanlarda doz ve zamana bağlı olsa da TBH sonrasında uygulanan MK-801 tedavisi nöronal iyileşme esnasında skar dokusunu artırarak GFAP ekspresyonunu arttırmış olabilir.

TBH oluşturulmuş yavru sıçanlara uygulanan MK-801 ilacının geç dönemde bilişsel davranış üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Biz de çalışmamızda MK-801 ilacının bilişsel davranış üzerine ileri dönem etkisini, travma uygulandıktan 16 hafta sonra davranış deneylerinden olan açık alan ve Morris su labirenti testi ile değerlendirdik. Açık alan testi, sıçanların lokomotor aktivitesini

değerlendirmede en sık kullanılan düzendir. Lokomotor aktivite; katedilen mesafe ve hareket hızının ölçümüyle değerlendirilebilmektedir (146). Yapılan çalışmalarda, lokomotor etkilenmesi olan sıçanların açık alan testinde kontrol grubuna göre daha yavaş hareket ettikleri ve daha az mesafe katettikleri gösterilmiştir. Açık alana bırakılan hayvanın kendi ortamından alınıp tek başına bilmediği farklı bir ortama bırakılması sıçanlarda anksiyete meydana getirir. Stresin sıçanların köşelerde donup kalmasına neden olacağı gibi aşırı hareketli olmasına da sebep olabileceği iddia edilmektedir (147, 148). Ancak çalışmamızın bu aşaması, bütün sıçanlar için eşit şartların oluşturulduğu bir odada yapıldı. Uygulamalar aynı kişi tarafından yapıldığından, anksiyete-stres gibi problemlerin tüm sıçanları eşit düzeyde etkilemesi sağlanmıştır. Çalışmamızda lokomotor aktiviteyi değerlendirmek amacıyla grupların açık alan düzeneğindeki katettikleri mesafeyi ve hareket hızlarını incelediğimizde, MK-801 uygulanan grupta katedilen mesafe ve hareket hızı en yüksek bulunmasına karşın gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bulgunun, MK-801'in daha az donma davranışı göstererek lokomotor aktiviteyi arttırdığını düşünebiliriz. Anksiyeteyi değerlendirmek amacıyla grupların açık alan düzeneğindeki orta ve perifer alanlarda geçirdiği sürelerine baktığımızda ise, travma+ MK-801 grubunun orta alanda geçirdiği sürenin en yüksek, perifer alanda geçirdiği sürenin ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en düşük olduğunu bulduk (sırasıyla $p=0,391$, $p=0,012$). Travma grubunda ise perifer alanda geçirilen süre ve thigmotaxis gibi anksiyete göstergesi olarak kullanılan davranışların diğer gruplara göre daha fazla olduğunu saptadık. Sönmez ve ark. benzer şekilde yapmış oldukları çalışmalarında, tek doz 1 mg/kg MK-801 dozuyla yapılan tedavinin travmaya maruz bırakılan hayvanların anksiyetesini azalttığını belirtmişler (6). Guo ve ark. ise MK-801'in, immatür sıçanlarda lokomotor aktiviteyi sürekli arttırdığını göstermişler (149). Bu bulgulara dayanarak TBH sonrası MK-801 uygulamasının, travmanın oluşturduğu kaygıyı azalttığını söyleyebiliriz. Nitekim, açık alan testinden elde ettiğimiz mevcut bulgularımız sağlıklı insanlarda psikoz benzeri semptomlara yol açan MK-801'in aynı zamanda anksiyolitik etkinlik gösterdiği yönündeki bulgularla aynı yöndedir.

Sıçanlarda hipokampal-bağımlı öğrenme ve belleği test etmek amacıyla kullandığımız Morris su labirenti testi bulgularına göre ise, travma grubunun gizli platformu diğer gruplara kıyasla daha uzun sürelerde bulduğu ve testin üçüncü ve

dördüncü gününde platform bulma süresi (öğrenme denemeleri) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini bulduk (sırasıyla $p=0,023<0,05$ $p=0,009<0,05$). MK-801 uygulanan gruptaki sıçanların ise gizli platformu travma grubuna kıyasla daha kısa sürede bulduklarını saptadık. Bu bulgularla MK-801'in TBH'ye maruz bırakılmış sıçanlarda öğrenme yetilerine olumlu katkıda bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır. Yüzme hızları açısından baktığımızda ise 4. günün sonunda gruplar arasında yapılan analizler sonucunda anlamlı bir farklılık bulunamadı. Dolayısıyla travmanın motor fonksiyonları bozmadan kognitif fonksiyonları etkilediğini ve travma modelimizin uygun şekilde çalıştığını söyleyebiliriz. Bellek performansının değerlendirildiği beşinci günde yapılan hatırlama (*probe trial*) deneyinde platformun yerini öğrenmeyi (hedef kadranda geçirilen süre) değerlendirdiğimiz çalışmamızda, travma grubunun hedef kadranda diğer gruplara kıyasla istatistiksel anlamlı olarak daha kısa süre geçirdiğini ($p=0,018<0,05$) gözlemledik. Diğer bir ifadeyle travmatik beyin hasarı modelinin, hayvanlarda öğrenme ve hafıza kabiliyetini önemli ölçüde bozduğu belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında opozit kadranda geçirilen süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı. Ağırılık düşürmeyle kapalı kafa travması yapılan bir çalışmada, travma sonrası 1. ayda Morris su labirenti testi ile bilişsel ve hafıza kusurlarına neden olduğu gösterilmiştir (150). Aynı yöntemle yapılan diğer bir çalışmada ise, sıçanlarda yaralanma şiddeti ile ilişkili motor ve bilişsel fonksiyonlarda bozulma, yürüyüş ve hafıza bozuklukları gösterilmiş (151). MK-801 uygulanan grubun ise hedef kadranda daha uzun süre geçirdiğini saptadık. Dolayısıyla MK-801'in TBH'ye maruz bırakılmış sıçanlarda bellek performansları üzerine de olumlu etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Liu ve ark. çalışmalarında şartlı korku belleğinin sönme ve bütünleşme etkilerini incelemişler, gecikmeli sönme koşullanmış korku tepkileri üzerinde daha uzun süreli (20. günde anlamlılık) bir depresyona neden olduğunu belirlemişler (152). İkinci olarak yaptıkları deneyde MK-801, korku tükenme belleğini başlatmak, birleştirmek veya sürdürmek için kritik zaman noktalarına karşılık gelen gecikmeli sönmeden 4 saat veya 12 saat önce i.p. enjekte edilmiş, sonuç olarak MK-801 bir Pavlovian modelde işitsel şartlı korku tepkilerinin sönmesini konsolide etmesini engellemiş. Mikics ve ark. benzer şekilde öğrenme ve hatırlamaya ilişkin akut ve kalıcı sonuçları araştırmak amacıyla, korku koşullanması ardından 1. ve 28. günlerdeki davranışsal tepkileri araştırmışlar ve MK-801'in (0.05 ve 0.1 mg/kg) her iki günde de korkuya ilişkin olaylarda asosiyatif öğrenmenin azalmasını engellediğini belirlemişler (153). Ancak tüm bu bulguların

aksine, bir çalışma MK-801'in (0.01-0.1 mg/kg sc) motor veya duysal mekanizmalardan ayrıştırılmayan uzaysal öğrenmede bir bozulma ürettiğini belirtmiş (154). Yine yapılan başka bir çalışmada, 0.2 mg/kg i.p. MK-801'in Morris su labirenti deneyi ile öğrenme ve hafıza üzerindeki etkileri araştırılmış. MK-801'in öğrenme ve hafızayı bozduğu, Lurasidone'un ise bu durumu tersine çevirdiği gösterilmiş (155). Sonuç olarak, MK-801'in öğrenme ve bellek performansı üzerindeki kronik dönem etkisinin tam olarak ortaya konması için, MK-801'in hipokampal yapı ve fonksiyonlarına ilişkin hasarlara karşı ileri dönem etkilerini inceleyen literatür çalışmalarına ihtiyaç vardır.



8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Travmatik beyin hasarı pediatrik çağda önemli bir sağlık problemidir ve aynı zamanda günlük yaşamın birçok alanında çeşitli etkilerle birlikte sosyal, ekonomik ve ruhsal alanda problemler ortaya çıkarmaktadır. Bu araştırmada, rekabetçi olmayan bir NMDA reseptörü antagonisti olan MK-801'in, künt kafa travmasına maruz bırakılmış 7 günlük immatür sıçanlarda hipokampal yapı ve fonksiyonlarına ilişkin hasarlara karşı ileri dönem etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca immatür sıçanlarda travmatik beyin hasarı sonrası hipokampustaki nöron yoğunluğu ve kognitif fonksiyonlar üzerinde etkileri incelenmiştir.

Çalışma bulguları ışığında elde edilen sonuçlar şu şekilde sıralanabilir:

Travmatik beyin hasarına maruz bırakılan immatür sıçanların travma sonrası 16 hafta boyunca, haftalık kilo düzeyleri takip edilmiştir. Travma grubunun, kontrol ve travma+ MK-801 gruplarına göre kilo alımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği bulunmuştur.

Travmatik beyin hasarı sonrası incelenen bilateral hipokampal nöron sayımı bulgularına göre; travma grubunda yer alan sıçanların sağ hipokampusun CA1, CA3 ve DG alanlarındaki nöron sayılarının kontrol grubuna göre grup ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını, travma+ MK-801 grubunda yer alan sıçanların ise yalnızca ipsilateral hipokampal alanlarda değil, aynı zamanda kontralateral hipokampal alanlarda da nöron sayılarının korunduğu ve kontrol grubuna yakın düzeyde seyrettiği, fakat grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir.

İmmunohistokimyasal bulgulara göre, travma sonucunda bilateral hipokampal alanda BDNF ve NGF ekspresyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı ve sağ hipokampal CA1, CA3 ve DG alanlarında NMDA-R ekspresyonlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı, MK-801 uygulamasının bu bölgelerde BDNF, NGF ve NMDA-R ekspresyonlarındaki azalmayı tersine çevirerek arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca MK-801'in sağ hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında ve sol

hipokampal CA3 alanında GFAP ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı gözlemlenmiştir.

Yapılan ELISA analizi bulguları ise histolojik bulgulara uyumluluk göstermiştir. Test sonuçlarına göre; travma grubunda sağ hipokampal CA1, CA3, DG bölgelerinde NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur (sırasıyla $p=0,026$, $p=0,017$ ve $p=0,001$). Travma+ MK-801 grubunda ise sağ hipokampal CA1, CA3, DG bölgelerinde NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerinde travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,035$, $p=0,030$ ve $p=0,001$). Sol hipokampal CA1, CA3 ve DG bölgelerinde ise NGF, BDNF ve NMDA-R protein düzeylerinin grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Açık alan testi bulgularına göre, travma+ MK-801 grubunun orta alanda geçirdiği sürenin en uzun, perifer alanda geçirdiği sürenin ise istatistiksel anlamlı olarak kısa olduğu belirlenmiştir. Travma grubunda ise orta alanda geçirilen süre kısa, perifer alanda geçirilen süre ise uzun bulunmasına karşın istatistiksel olarak grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Diğer açık alan testi bulguları incelendiğinde, travma+ MK-801 grubunun katettiği mesafe ve hareket hızı yüksek olmasına rağmen grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Daha sonra bu grubu sırasıyla travma ve kontrol grupları izlemiştir.

Morris su labirent testi bulguları değerlendirildiğinde; travma grubundaki sıçanların testin üçüncü ve dördüncü gününde kontrol grubuna göre platformu istatistiksel olarak anlamlı derecede daha uzun sürede bulduğu (sırasıyla $p=0,023<0,05$ $p=0,009<0,05$), travma+ MK-801 grubundaki sıçanların ise travma grubuna göre platformu daha kısa sürede bulduğu fakat grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmediği bulunmuştur ($p>0.05$). Yüzme hızı açısından 4. günün sonunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Travma+ MK-801 grubunun hedef kadranda geçirdiği sürenin travma grubuna kıyasla daha uzun olduğu, ayrıca travma grubunun hedef kadranda geçirdiği

sürenin diğer gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak daha kısa olduğu belirlenmiştir ($p=0,018<0,05$).

Öneri olarak; Çalışmanın morfolojik, histolojik, biyokimyasal ve davranış sonuçları, özellikle kontrol ve travma grubu arasındaki farklılıklar oluşturulan travma modelinin uygulamasında bir problem olmadığını desteklemektedir. Çalışmamız bu modelde oluşturulan kafa travmasına karşı MK-801'in morfolojik, histolojik, biyokimyasal ve davranış testleri açısından kronik dönemdeki etkilerini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmada bulduğumuz bulgular sıçanlarda kafa travması sonucu uygulanan tek doz i.p. 1 mg/kg dozdaki MK-801'in kronik dönemde travma ile oluşan morfolojik, histolojik, biyokimyasal ve davranış bozuklukları üzerine etkili olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar literatürde MK-801'in deney hayvanlarında kafa travmasına karşı gösterdiği akut dönem koruyucu etkilerle uyumludur.

MK-801'in kafa travması sonucu ortaya çıkan koruyucu etkileri deney hayvanlarında çalışılırken, akut dönemde bu ilacın deney hayvanlarında psikotik etkileri gözlenmiştir. Ayrıca MK-801 çocuklarda kafa travması sonrasında tedavi amacı ile kullanılmış fakat lokomotor aktivitede artış ve psikotik etkileri gözlenmiş ve tedavi amacı ile kullanımı terk edilmiştir. Oysa bizim çalışmamızda MK-801 uygulaması sonrasında uzun süreli etkiler değerlendirildiğinde, deney kapsamında kullanılan davranış testlerinde lokomotor aktivitede artış olmasına rağmen psikotik etkiler gözlenmemiştir. Kafa travması sonrası MK-801'in deney hayvanlarında uzun süreli nöroprotektif etkileri araştırılırken psikotik etkilerin varlığı daha hassas testlerle değerlendirilmesi literatüre önemli katkılar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Altınörs N, Baykaner K, Şekerci Z, Özyurt E, Caner H editor. Ankara. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, 1997.
2. Marshall LF. Head injury: recent past, present, and future. *Neurosurgery*. 2000; 47(3): 546-61.
3. Morris RG. NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology*. 2013;74:32-40.
4. Hudson L, Liu J, Nath A, Jones M, Raghavan R, ve ark., Detection of the human immunodeficiency virus regulatory protein Tat in CNS tissues. *J Neurovirology*, 2000; 6(2): 145–55.
5. Sonmez U, Sonmez A, Erbil G, Tekmen I, Baykara B. Neuroprotective effects of resveratrol against traumatic brain injury in immature rats. *Neuroscience letters*. 2007; 420(2): 133-7.
6. Sonmez A, Sayin O, Gurgen SG, Calisir M. Neuroprotective effects of MK-801 against traumatic brain injury in immature rats. *Neuroscience letters*. 2015; 597:137-42.
7. Smith DH, Lowenstein DH, Gennarelli TA, McIntosh TK. Persistent memory dysfunction is associated with bilateral hippocampal damage following experimental brain injury. *Neuroscience letters*. 1994; 168(1-2): 151-4.
8. Özdemir D, Tugyan K, Uysal N, Sonmez U, Sonmez A, ve ark., Protective effect of melatonin against head trauma-induced hippocampal damage and spatial memory deficits in immature rats. *Neuroscience letters*. 2005; 385(3): 234-239.
9. Pettenuzzo LF, Wyse AT, Wannmacher CM, Dutra-Filho CS, Netto CA, Wajner M. Evaluation of the effect of chronic administration of drugs on rat behavior in the water maze task. *Brain research Brain res. Pro*. 2003; 12(2):109-15.
10. Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ., The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science*. 2004; 304(5672): 881-3.
11. Lee I, Kesner RP. Time-dependent relationship between the dorsal hippocampus and the prefrontal cortex in spatial memory. *J Neurosci*. 2003;23(4):1517-23.

12. Jo YS, Park EH, Kim IH, Park SK, Kim H, ve ark. The medial prefrontal cortex is involved in spatial memory retrieval under partial-cue conditions. *J Neurosci.* 2007;27(49):13567-78.
13. Amaral DG WM. The hippocampal formation: the rat nervous system. P. G. San Diego, 1995.
14. Rendeiro C, Spencer JP, Vauzour D, Butler LT, Ellis JA, ve ark. The impact of flavonoids on spatial memory in rodents: from behaviour to underlying hippocampal mechanisms. *Genes & nutrition.* 2009; 4(4):251-70.
15. Sherer M, Madison CF, Hannay HJ. A review of outcome after moderate and severe closed head injury with an introduction to life care planning. *The Journal of head tra. rehab.* 2000;15(2):767-82.
16. Yeates KO, Taylor HG, Wade SL, Drotar D, Stancin T, ve ark. A prospective study of short- and long-term neuropsychological outcomes after traumatic brain injury in children. *Neuropsychology.* 2002;16(4):514-23.
17. Schurr A. Neuroprotection against ischemic/hypoxic brain damage: blockers of ionotropic glutamate receptor and voltage sensitive calcium channels. *Current drug targets.* 2004;5(7):603-18.
18. Imer M, Omay B, Uzunkol A, Erdem T, Sabanci PA, ve ark. Effect of magnesium, MK-801 and combination of magnesium and MK-801 on blood-brain barrier permeability and brain edema after experimental traumatic diffuse brain injury. *Neurological research.* 2009;31(9):977-81.
19. Rigby M, Le Bourdelles B, Heavens RP, Kelly S, Smith D, ve ark. The messenger RNAs for the N-methyl-D-aspartate receptor subunits show region-specific expression of different subunit composition in the human brain. *Neuroscience.* 1996;73(2):429-47.
20. Chen MH, Bullock R, Graham DI, Miller JD, McCulloch J. Ischemic neuronal damage after acute subdural hematoma in the rat: effects of pretreatment with a glutamate antagonist. *Journal of neurosurg.* 1991;74(6):944-50.
21. Ikonomidou C, Stefovaska V, Turski L. Neuronal death enhanced by N-methyl-D-aspartate antagonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State. of America.* 2000;97(23):12885-90.
22. Han R-Z, Hu J-J, Weng Y-C, Li D-F, Huang Y. NMDA receptor antagonist MK-801 reduces neuronal damage and preserves learning and memory in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosci Bull* 2009; 25(6): 367-375.

23. Hamm RJ, O'Dell DM, Pike BR, Lyeth BG. Cognitive impairment following traumatic brain injury: the effect of pre- and post-injury administration of scopolamine and MK-801. *Brain research Cogni. brain resea.* 1993;1(4):223-6.
24. Celik SE, Ozturk H, Tolunay S. Therapeutic effect of hypothermia and dizocilpine maleate on traumatic brain injury in neonatal rats. *J Neurotrauma.* 2006;23(9):1355-65.
25. Lessmann V. Neurotrophin-dependent modulation of glutamatergic synaptic transmission in the mammalian CNS. *General pharmacology.* 1998;31(5):667-74.
26. Uysal M. Serbest radikaller, Lipid Peroksitleri Ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-341.
27. Hicks RR, Numan S, Dhillon HS, Prasad MR, Seroogy KB. Alterations in BDNF and NT-3 mRNAs in rat hippocampus after experimental brain trauma. *Brain research Molecular brain resea.* 1997;48(2):401-6.
28. Ray SK, Dixon CE, Banik NL. Molecular mechanisms in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Histology and histo.* 2002;17(4):1137-52.
29. Shah SA, Prough DS, Garcia JM, DeWitt DS, Hellmich HL. Molecular correlates of age-specific responses to traumatic brain injury in mice. *Experi. geron.* 2006;41(11):1201-5.
30. Hicks RR, Martin VB, Zhang L, Seroogy KB. Mild experimental brain injury differentially alters the expression of neurotrophin and neurotrophin receptor mRNAs in the hippocampus. *Experimental neuro.* 1999;160(2):469-78.
31. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth factors (Chur, Switzerland).* 2004;22(3):123-31.
32. Lindholm D, Castren E, Berzaghi M, Blochl A, Thoenen H. Activity-dependent and hormonal regulation of neurotrophin mRNA levels in the brain--implications for neuronal plasticity. *Journal of neuro.* 1994;25(11):1362-72.
33. Sencer A, Arica O, Kirin T, Gorgulu A, Aktan D. Effects of memantine and MK-801 on ischemia in an experimental model of acute subdural hematoma. *Neurological resea.* 2008;30(5):497-503.
34. Xiong Y, Mahmood A, Chopp M. Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci* 2013; 14(2): 128-142.
35. Işık, H, S. Bostancı, U., Yıldız, Ö., Özdemir, C., Gökyar, A. Kafa travması nedeniyle tedavi edilen 954 erişkin olgunun retrospektif değerlendirilmesi: Epidemiyolojik çalışma. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2011; 17 (1):46-50.

36. Maas, A., Stocchetti, N., Bullock, R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults *Lancet Neurol* 2008; 7: 728–741.
37. Faul, Mark, Xu, L., Wald, M., Coronado, V. Traumatic brain injury in the United States; emergency department visits, hospitalizations, and deaths, 2002-2006., U.S. Dept. of Health and Human Servics, 2010, U.S.A.
38. Lawrence, C., Best, J., Cockington, J., Henry, E.C., Hurley, S., ve ark., The Complete and Updated "Rotifer Polyculture Method" for Rearing First Feeding Zebrafish, *Journal Of Visual. Experi.*, 2016; e53629.
39. Peeters, W., Brande, R., Polinder, S., Brazinova, A., W. S. E., Lingsma, H., ve ark., Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochir* 2015; 157:1683–1696.
40. Curtis K., Caldwell, E., Delprado, A., Munroe, B., Traumatic injury in Australia and New Zealand. *Australasian Emerg. Nursing Journal*. 2012; 15: 45-54.
41. Li, M., Zhao, Z., Yu G., Zhang, J. Epidemiology of Traumatic Brain Injury over the World: A Systematic Review. *Austin Neurol & Neurosci*. 2016; 1(2): 1007.
42. Akgül, M., Burulday. V., Acil Ünitesine Kafa Travması Nedeni İle Başvuran Olguların Değerlendirme Sonuçları. *Kırıkkale Üni. Tıp Fak. Derg.* 2016; 18(3): 134-138.
43. Mychasiuk, R., Farran, A., and Esser, M. J. Assessment of an Experimental Rodent Model of Pediatric Mild Traumatic Brain Injury. *Journal of Neuro.* 2014; 31: 749–757.
44. Aykanat, Ö., Deneysel Kafa Travmasında Etanercept'in Akut Dönemdeki Antienflamatuar, Antiödem ve Nöroprotektif Etkisi. *Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi*, 2014, Düzce.
45. Munakomi S. A comparative study between Marshall and Rotterdam CT scores in predicting early deaths in patients with traumatic brain injury in a major tertiary care hospital in Nepal. *Chinese Journal of Trau.* 2016; 19: 25-27.
46. Liesemer, K., Riva-Cambrin, J., Bennett, K, Bratton, S., Tran, H., ve ark. Use of Rotterdam CT Scores for Mortality Risk Stratification in Children with Traumatic Brain Injury. *Pediatr Crit Care Med*. 2014; 15(6): 554–562.
47. Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *British Journal of Anaest.* 2007; 99(1): 4–9.
48. Guerriero R. M., Giza C. C. and Rotenberg A. Glutamate and GABA imbalance following traumatic brain injury. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2016; 15(5): 27.

49. Yi H., Hazell, A. Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury. *Neurochemistry Interna.* 2006;48: 394-403.
50. Koizumi H, Fujisawa H, Ito H, Maekawa T, Di X, ve ark. Effects of mild hypothermia on cerebral blood flow-independent changes in cortical extracellular levels of amino acids following contusion trauma in the rat. *Brain Res.* 1997; 747(2):304-312.
51. Bullock R, Zauner A, Woodward JJ, Myseros J, Choi SC, ve ark. Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury. *J Neurosurg.* 1998; 89(4):507-18.
52. Doh M. Pharmacological Treatment of Glutamate Excitotoxicity Following Traumatic Brain Injury. Master's Thesis, Uniformed Services University of the Health Sciences, Maryland, 2009.
53. Yi JH, Hoover R, McIntosh TK, Hazell AS. Early, transient increase in complexin I and complexin II in the cerebral cortex following traumatic brain injury is attenuated by N-acetylcysteine. *J Neurotrauma.* 2006; 23(1):86-96.
54. Rao VL, Başkaya MK, Doğan A, Rothstein JD, Dempsey RJ. Traumatic brain injury down-regulates glial glutamate transporter (GLT-1 and GLAST) proteins in rat brain. *J Neurochem.* 1998;70(5): 2020-2027.
55. Jain KK. Neuroprotection in traumatic brain injury. *Drug Discov Today* 2008; 13(23-24): 1082–1089.
56. Tetik H. Nanoparçaya Yüklendiş Farnesiltiosalisilik Asit'in Kafa Travması Modelinde Nöroprotektif ve Antiödem Etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2017.
57. Cernak I. Animal models of head trauma. *NeuroRx* 2005; 2(3): 410-422.
58. Denny-Brown D, Russell WR. Experimental cerebral concussion. *Brain* 1941; 64:93-164.
59. Johnson, V. Meaney D., Kacy Cullen D., Smith D. Animal models of traumatic brain injury. *Handb Clin Neurol.* 2015; 127: 115–128.
60. O'Connor W, T. Smyth, A. Gilchrist, M. T. Animal models of traumatic brain injury: A critical evaluation. *Pharmacology & Therapeutics* 2011; 130:106–113.
61. Düz E. Deneysel Kafa Travması Modelinde İnsan Umbilikal Kordon Kanından Elde Edilmiş Kök Hücre Naklinin ve Nimodipinin Beraber Kullanımının Serebral Doku İyileşmesi ve Nörolojik Fonksiyonlara Etkisi. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli, 2011.

62. Wittenberg GM, Tsien JZ. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci* 2002; 25:501-505.
63. Gürpınar D, Erol A, Mete L. Depresyon ve Nöroplastisite. *Klinik Psikofar. Bül.* 2007; 17: 100-110.
64. Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M: Hipokampus. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2001; 21(5):427-431.
65. İzci Y., Erbaş, C., Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları, *Türk Nöroşir Dergisi*, 2015, 25(3): 287-295.
66. Berktaş F, Kıröğlü O, Aksu F. Antidepresan İlaçların Öğrenme ve Bellek Mekanizmasına Etkileri. *Arşiv Kaynak Tara. Derg.*, 2017; 26(2): 178-206.
67. Zhang K, Zhao T, Huang X, Wu LY, Wu K, ve ark., Notch1 mediates postnatal neurogenesis in hippocampus enhanced by intermittent hypoxia. *Neurobiol Dis.* 2014. 64:66-78.
68. Wixted JT, Squire LR, Jang Y, Papesh MH, Goldinger SD, ve ark. Sparse and distributed coding of episodic memory in neurons of the human hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 2014; 111(26): 9621- 9626.
69. Augustinack JC, van der Kouwe AJ, Salat DH, Benner T, Stevens AA, Annese J, Fischl B, Frosch MP, Corkin S: H.M.'s contributions to neuroscience: A review and autopsy studies. *Hippocampus* 2014; 24(11): 1267-1286.
70. Kuş, İ, Zararsız İ, Ögetürk M, Yılmaz R. Formaldehit Nörotoksitesine Bağlı Hipokampusta Gelişen Oksidatif Hasar ve Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi: Deneysel Bir Çalışma. *Fırat Tıp Der.* 2007; 12(4): 256-260.
71. Suzuki M, Hagino H, Nohara S, Zhou SY, Kawasaki Y, ve ark., Male-specific volume expansion of the human hippocampus during adolescence. *Cereb Cortex* 2005; 15(2):187-193.
72. Schacter DL, Wagner AD. Learning and Memory. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ.(Eds) *Principles of Neural Science*.5th ed Newyork:The McGraw-Hill Companies; 2013. p.1441-60.
73. Sweatt DJ. The Basics of Psychological Learning and Memory Theory. In: Sweatt DJ (Eds.). *Mechanism of Memory*.2th ed. Slovenia: Elsevier; 2010. p.2-23. 7.
74. Topuz, R. Morris Su Labirenti Uzaysal Öğrenme Ve Bellek Modelinde, Sıçan Hipokampusünde Histon Asetilasyonu Ve Histon Deasetilaz İnhibitörünün Etkisi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2015.

75. Puzzo D, Lee L, Palmeri A, Calabrese G, Arancio O. Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines. *Biochem Phar.* 2014; 88(4):450-67.
76. Kurul S, Gülmez Ö. Nöroproteksiyon ve Nöron Koruyucu Ajanlar. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2007; 21(2): 119-130.
77. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia A-S, ve ark. *Neuroscience, Third Edition.* Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
78. Özdemir O, Özdemir PG. Glutamat Sistemi ve Şizofreni. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2016; 8(4): 394-405.
79. Harun-Dağdeviren B. Zenginleştirilmiş Çevrenin Yavru Sıçanlarda Mekânsal Hafıza ve Öğrenme İle İlişkili Reseptörler Üzerine Etkisi. *Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta*, 2014.
80. Demirci S, Eşel E. Öğrenme ve hafızanın hücresel düzenekleri ve psikiyatrik hastalıklarla ilişkisi. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2004; 5: 239-248.
81. Çelik G, Tahiroğlu A, Avcı A. Ergenlik Döneminde Beynin Yapısal ve Nörokimyasal Değişimi. *Klinik Psikiyatri* 2008; 11: 42-47.
82. Aydın ÖF, Kurne A, Karabudak R. Multipl Skleroz Patogenezinde Basamaklar II: Nörodejenerasyonda Biyolojik Göstergeler, Sodyum Kanalları ve Glutamatın Rolü. *Türk Nöro. Derg.*, 2006; 12(2): 98-105.
83. Levi MS, Brimble MA. A review of neuroprotective agents. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2383-2397.
84. Flores-Soto ME, Chaparro-Huerta V, Escoto-Delgadillo M, Vazquez-Valls E, GonzálezCastañeda RE, ve ark., Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits. *Neurologia* 2012; 27(5): 301-310.
85. Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol.* 2001; 11(3): 327-335.
86. Zhu S, Paoletti P. Allosteric modulators of NMDA receptors: multiple sites and mechanisms. *Current Opinion in Pharmacology* 2015; 20: 14-23.
87. Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology* 1998; 54: 581-618.
88. Xi D, Zhang W, Wang H-X, Stradtman GG, Gao W-J. Dizocilpine (MK-801) induces distinct changes of N-methyl-D-aspartic acid receptor subunits in

- parvalbumin-containing interneurons in young adult rat prefrontal cortex. *Inter. J. of Neuro.* 2009; 12: 1395-1408.
89. Kovacic P, Somanathan R. Clinical physiology and mechanism of dizocilpine (MK-801) Electron transfer, radicals, redox metabolites and bioactivity. *Oxida. Med. and Cel. Long.* 2010; 3(1): 13-22.
90. Javitt DC, Zukin SR: Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1991 Oct;148(10):1301-8.
91. Ozyurt B, Ozyurt H, Akpolat N, Erdogan H, Sarsilmaz M: Oxidative stress in prefrontal cortex of rat exposed to MK-801 and protective effects of CAPE. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007 May 9;31(4):832-8. Epub 2007 Feb 12.
92. Song X, Jensez M, Jogini V, Stein RA, Lee C-H, Mchaourab HS, Shawz DE, Gouaux E. Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine. *Nature.*
93. Bittigau P, Sifringer M, Pohl D, Stadthaus D, Ishimaru M, ve ark. Apoptotic neurodegeneration following trauma is markedly enhanced in the immature brain. *Annals Of Neuro.* 1999; 45(6): 724-735.
94. McDonald JW, Silverstein FS, Johnston MV. MK-801 pretreatment enhances N-methyl-D-aspartate-mediated brain injury and increases brain N-methyl-D-aspartate recognition site binding in rats. *Neuroscience.* 1990;38(1):103-13.
95. Ateş M, Dayı A, Kıray M, Şişman AR, Agilkaya S, ve ark. Anxiety- and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotechnic & histo.,* 2014; 89(3): 161-171.
96. Dayı A, Çetin F, Şişman AR, Aksu İ, Taş A, ve ark. The Effects of Oxytocin on Cognitive Defect Caused by Chronic Restraint Stress Applied to Adolescent Rats and on Hippocampal VEGF and BDNF Levels. *Med Sci Monit,* 2015; 21: 69-75.
97. Illouz T, Madar R, Louzoun Y, Griffioen KJ, Okun E. *Brain Behav Immun.* 2016; 52: 132-144.
98. Paxinos CW. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* New York, USA, 1997.
99. Kayri M. Araştırmalarda Gruplar Arası Farkın Belirlenmesine Yönelik Çoklu Karşılaştırma (Post-Hoc) Teknikleri, *Fırat Üniv. Sos. Bil. Derg.* 2009; 19(1).

100. Crooks CY, MD, Zumsteg JM, Bell KR. Traumatic Brain Injury: A Review of Practice Management and Recent Advances. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 18: 681– 710, 2007.
101. Dawodu ST. Traumatic Brain Injury: Definition, Epidemiology, Pathophysiology. *Medicine Journal* 2002; 359:417-25.
102. Jess FK, David LM, Terry AS, Madhangi J. Epidemiology of brain injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. McGraw-Hill. 1996. pp 13- 30,
103. Ökten Aİ, Ergün R, Beşkonaklı E, Akdemir G, Bostancı U, ve ark. Kafa travmasında prognozu ve ölüm oranını etkileyen unsurlar. *Türk Nöro. Derg.*, 1997;7:51-59.
104. Kraus JF, McArthur DL. Epidemiologic aspects of brain injury. *Neurol Clin* 1996; 14: 435-450.
105. Hausmann R, Biermann T, Wiest I, Tübel J, Betz P. Neuronal apoptosis following human brain injury. *Int J Legal Med* 118(1): 32–36, 2004.
106. Miller JD, Piper IR, Jones PA, Pathophysiology of head injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. Mc Graw Hill Companies. 1996; 61-69.
107. Gennarelli TA, Meaney DF, Mechanisms of primary Head Injury, In: Wilkins RH, Rengachary SS (eds). *Neurosurg.* 2 nd ed. New York: McGraw-Hill, 1996; 2611-2621,
108. Gennarelli TA: Mechanisms of cerebral concussion, contusion, and other effects of head injury, In Youmans, J.R. ed. *Neurological Surgery*, third edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1990; 1953-1964.
109. Gade GF, Becker DP, Miller JD, Dwan PS, Pathology and pathophysiology of head injury, In Youmans, J.R. ed. *Neurological Surgery*, third edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1990; 1965-2016.
110. Graham DI, Neuropathology of head injury, In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. Mc Graw Hill Companies, 1996; 43-59.
111. Adelson PD, Dixon CE, Kochanek PM. Long-Term Dysfunction Following Diffuse Traumatic Brain Injury in the Immature Rat. *Journal of Neurotrauma* 2009; 17(4): 10-11.

112. Rowe RK, Rumney BM, May HG, Permana, P., Adelson, D. ve ark., Diffuse traumatic brain injury affects chronic corticosterone function in the rat. *Endoc. Connec.* 2016; 5(152): 152-166.
113. Crenn P, Hamchaoui S, Bourget-Massari A, Hanachi M, Melchior J-C, ve ark. Changes in weight after traumatic brain injury in adult patients: A longitudinal study. *Clinical Nutrition* 2014; 33: 348-353.
114. Wright LKM, Pople EJ, Allen RR, Pearson CC, Hammond TG, ve ark. Effect of chronic MK-801 and/or phenytoin on the acquisition of complex behaviors in rats. *Neuro. and Tera.* 2007; 29: 476-491.
115. Hur G-H, Son W-C, Shin S, Kang J-K, Kim Y-B. Sex differences in diazocilpine (MK-801) neurotoxicity in rats. *Envi. Tox. Phar.*, 1999; 7:143-146.
116. Phillips LL, Lyeth BG, Hamm RJ, Jiang JY, Povlishock JT, ve ark., Effect of prior receptor antagonism on behavioral morbidity produced by combined fluid percussion injury and entorhinal cortical lesion. *J Neurosci Res.* 1997, 15;49(2):197-206.
117. Nicholls DG, Ward MW. Mitochondrial membrane potential and neuronal glutamate excitotoxicity: mortality and millivolts. *Trends Neurosci.* 2000; 23(4):166-74.
118. Shapira Y, Yadid G, Cotev S, Niska A, Shohami E. Protective effect of MK801 in experimental brain injury. *Journal of Neuro.*, 2009; 7(3): 10.
119. Héja L. Astrocytic target mechanisms in epilepsy. *Curr Med Chem.* 2014;21(6):755–763.
120. Koyama Y, Tsujikawa K, Matsuda T, Baba A. Intracerebroventricular administration of an endothelin ETB receptor agonist increases expressions of GDNF and BDNF in rat brain. *Eur J Neurosci.* 2003. 18(4):887–894.
121. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification Of A New Neurotrophic Factor From Mammalian Brain, *EMBO J.* 1982; 1(5):549-53.
122. Cohen Cory S, Kidane AH, Shirkey NJ, Marshak S., Brain-Derived Neurotrophic Factor And The Development Of Structural Neuronal Connectivity, *Dev Neurobiol.* 2010. 70(5):271-88.
123. Kuczewski N, Porcher C, Gaiarsa JL. Activity-Dependent Dendritic Secretion Of Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates Synaptic Plasticity. *Eur J Neurosci.* 2010. 32(8):1239–1244.

124. Zhang XY, Chen da C, Xiu MH, Haile CN, Luo X, ve ark., Cognitive And Serum BDNF Correlates Of BDNF Val66Met Gene Polymorphism In Patients With Schizophrenia And Normal Controls. *Hum Genet.* 2012; 131(7):1187–1195.
125. Autry AE, Monteggia LM. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev.* 2012; 64(2):238-58.
126. Yu, W., Zhu, H., Wang, Y., Li, G., Wang L, ve ark., Reactive transformation and increased bdnf signaling by hippocampal astrocytes in response to MK-801, *PLoS One.* 2015; 10(12): e0145651.
127. Fumagalli F, Molteni R, Roceri M, Bedogni F., Santero, R., ve ark. Effect of Antipsychotic Drugs on BrainDerived Neurotrophic Factor Expression Under Reduced N-Methyl-D-Aspartate Receptor Activity. *J Neurosci Res.*, 2003; 72: 622-628.
128. Lindén AM, Väisänen J, Lakso M, Nawa H, Wong G, ve ark., Expression of neurotrophins BDNF and NT-3, and their receptors in rat brain after administration of antipsychotic and psychotropic agents. *J Mol Neurosci.* 2000, 14(1-2):27-37.
129. Cassol-Jr OJ, Comim CM, Constantino LS, Rosa DV, Mango LA, ve ark., Acute low dose of MK-801 prevents memory deficits without altering hippocampal DARPP-32 expression and BDNF levels in sepsis survivor rats, *J. Neuroimmunol.*, 230, 2011, 48-51.
130. Conte, V., Raghupathi, R., Watson, DJ, Fujimoto, S., Royo, NC, ve ark., TrkB gene transfer does not alter hippocampal neuronal loss and cognitive deficits following traumatic brain injury in mice, *Restor Neurol Neurosci.* 2008; 26(1):45-56.
131. Miller LP., Lyeth BG, Jenkins LW, Oleniak L, Panchision D, ve ark., Excitatory amino acid receptor subtype binding following traumatic brain injury. *Brain Res.* 1990; 526(1):103-7.
132. Kumar, A., Zou L, Yuan X, Long Y, Yang K. J N-methyl-D-aspartate receptors: transient loss of NR1/NR2A/NR2B subunits after traumatic brain injury in a rodent model, *Neurosci Res.* 2002; 67(6):781-6.
133. Giza CC, Maria NS, Hovda DA. N-methyl-D-aspartate receptor subunit changes after traumatic injury to the developing brain .*J Neurotrauma.* 2006, 23(6):950-61.

134. Zafra F, Castren E, Thoenen H, Lindholm D. Interplay Between Glutamate And Y-Aminobutyric Acid Transmitter Systems In The Physiological Regulation Of Brain-Derived Neurotrophic Factor And Nerve Growth Factor Synthesis In Hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 10037-10041.
135. Goodlett CR, Leo JT, O'Callaghan JP, Mahoney JC, Batı JR. Transient cortical astrogliosis induced by alcohol exposure during the neonatal brain growth spurt in rats. *Brain Res Dev Brain Res.* 1993; 72(1):85-97.
136. Balu, Balu R. İnflammation and immune system activation after traumatic brain injury, *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014 Oct; 14(10):484.
137. Morganti-Kossmann, Satgunaseelan L, Bye N, Kossmann T. Modulation of immune response by head injury. *Injury.* 2007. 38(12):1392-400.
138. Schonberg DL, Goldstein EZ, Sahinkaya FR, Wei P, Popovich PG, ve ark., Ferritin stimulates oligodendrocyte genesis in the adult spinal cord and can be transferred from macrophages to NG2 cells in vivo. *J Neurosci.* 2012; 32(16):5374-84.
139. Brooks DM, Patel SA, Wohlgelegen ED, Semmens EO, Pearce A, ve ark., Multiple mild traumatic brain injury in the rat produces persistent pathological alterations in the brain. *Exp Neurol.* 2017; 297: 62-72.
140. Regner A, Alves LB, Chemale I, Costa MS, Friedman G, ve ark., Neurochemical characterization of traumatic brain injury in humans, *J Neurotrauma.* 2001, 18(8):783-92.
141. Fix AS, Wightman KA, O'Callaghan JP. Reactive gliosis induced by MK-801 in the rat posterior cingulate/retrosplenial cortex: GFAP evaluation by sandwich ELISA and immunocytochemistry. *Neurotoxicology.* 1995; 16(2):229–237.
142. Haghghi SS, Johnson GC, de Vergel CF, Vergel Rivas BJ. Pretreatment with NMDA receptor antagonist MK801 improves neurophysiological outcome after an acute spinal cord injury. *Neurol Res.* 1996; 18(6):509-15.
143. Gomes FV, Llorente R, Del Bel EA, Viveros MP, López-Gallardo M, ve ark. Decreased glial reactivity could be involved in the antipsychotic-like effect of cannabidiol. *Schizophr Res.* 2015; 164(1–3):155–163.
144. Martins-de-Souza D, Lebar M, Turck CW. Proteome analyses of cultured astrocytes treated with MK-801 and clozapine: similarities with schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2011; 261(3):217-28.

145. Guest PC, Iwata K, Kato TA, Steiner J, Schmitt A, ve ark., MK-801 treatment affects glycolysis in oligodendrocytes more than in astrocytes and neuronal cells: insights for schizophrenia. *Front Cell Neurosci.* 2015; 12;9:180 .
146. Lieben CKJ, Oorsouw KV, Deutz NEP, Blokland A. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning in the rat. *Behav Brain Res*, 2004; 151: 53-64.
147. Candland DK. The open field: some comparative data. *Annals New York Academy of Sciences*, 1969; 159: 831-851.
148. Phillips KM. Effects of time and administration of ethanol on open field behavior in hamsters. *Physiology & Behavior*, 1982; 29: 785-787.
149. Guo C, Yang Y, Su Y, Si T. Postnatal BDNF expression profiles in prefrontal cortex and hippocampus of a rat schizophrenia model induced by MK-801 administration. *J Biomed Biotechnol.* 2010.
150. Maruichi, K., Kuroda, S., Chiba, Y., Hokari, M., Shichinohe, H., ve ark., Transplanted bone marrow stromal cells improves cognitive dysfunction due to diffuse axonal injury in rats. *Neuropathology*, 2009; 29, 422–32.
151. Schmidt RH, Scholten KJ, Maughan PH. Cognitive impairment and synaptosomal choline uptake in rats following impact acceleration injury. *J Neurotrauma.* 2000;17.
152. Liu J-L, Li M, Dang X-R, Wang Z-H, Rao Z-R, ve ark. A NMDA Receptor Antagonist, MK-801 Impairs Consolidating Extinction of Auditory Conditioned Fear Responses in a Pavlovian Model. *PLoS ONE* 2009; 4(10): e7548.
153. Mikics E, Toth M, Biro L, Bruzsik B, Nagy B, ve ark. The role of GluN2B-containing NMDA receptors in short-and long-term fear recall. *Physiology & Behavior*, 2017; 177: 44-48.
154. Ahlander M., Misane ben, Schott PA, Ögren SO. Postnatal BDNF expression profiles in prefrontal cortex and hippocampus of a rat schizophrenia model induced by MK-801 administration. *Nöropsikofarmakoloji.* 1999 21 (3): 414-26.
155. Enomoto T , Ishibashi T , Tokuda K , Ishiyama, T , Toma S ve ark. Lurasidone reverses MK-801-induced impairment of learning and memory in the Morris water maze and radial-arm maze tests in rats, *Behav Beyin Res.* 2008; 186 (2): 197-207.